

SUSANA PUGA RIBEIRO

ONTOGÊNESE DE ILHOTAS PANCREÁTICAS E RINS EM *Desmodus rotundus*: ADAPTAÇÕES MORFOLÓGICAS EM RESPOSTAS ÀS DIFERENTES DIETAS DURANTE DIFERENTES ESTÁGIOS DE VIDA

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

R484o
2018

Ribeiro, Susana Puga, 1962-

Ontogênese de ilhotas pancreáticas e rins em *Desmodus rotundus* : adaptações morfológicas em respostas às diferentes dietas durante diferentes estágios de vida / Susana Puga Ribeiro. – Viçosa, MG, 2018.
viii, 54 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Cláudio César Fonseca.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

I. Morcegos hematófagos - Nutrição. 2. Pâncreas - Adaptação. 3. Rins - Adaptação. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Geral e Estrutural. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural. II. Título.

CDD 22. ed. 599.45

SUSANA PUGA RIBEIRO

ONTOGÊNESE DE ILHOTAS PANCREÁTICAS E RINS EM *Desmodus rotundus*: ADAPTAÇÕES MORFOLÓGICAS EM RESPOSTAS ÀS DIFERENTES DIETAS DURANTE DIFERENTES ESTÁGIOS DE VIDA

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADA: 29 de junho de 2018.

x 
Sérgio Luis Pinto da Matta

x 
Clóvis Andrade Neves

x 
Luciano Carlos Heringer Porcaro Puga


Kyvia Lugate Cardoso Costa


Cláudio César Fonseca
(Orientador)

Dedico a

Meus pais, meus irmãos, filhos e netos
que me apoiaram e me incentivaram
e ao
Departamento de Biologia Animal
que sempre me acolheu carinhosamente.

AGRADECIMENTOS

..... dando graças constantemente ao Deus Pai por todas as coisas, em nome de nosso Senhor Jesus Cristo. Efésios 5:20.

Agradeço também aos meus pais por amarem incondicionalmente à mim, aos meus filhos e netos. Por me receberem sempre. Pela paciência, dedicação e orações.

À minha amiga Elenir por 28 anos de amizade. Pela credibilidade (sempre acreditou em mim, mais do que eu mesma) e pela confiança. Pelos dias de descanso ao seu lado em São Paulo, pelos passeios gastronômicos, pelas muitas risadas, pelo ombro, pelas broncas e pelo aprendizado.

Às minhas amigas “Dinas” e “Amigas do Chá” pelo apoio amigo, pela acolhida, pelas risadas e pelos choros.

À minha amiga Lora (Klênia, para os menos íntimos) pela disposição de me ouvir sempre, pela “paciência amiga”, pelas orações, por comprar meus pães mais caros (para me ajudar).

Aos meus amigos do Laboratório 333: à Grasi, por nossas conversas maravilhosas, pelo aprendizado e carinho; ao Dudu pelo apoio de sempre, pela paciência, pela disposição de me ajudar, por nunca dizer não a um pedido meu, por se alegrar e chorar comigo também; à Tatiana pelo apoio, pelas risadas e choros juntas; à Fernanda pelas conversas, pelos ensinamentos, pela paciência e também pelas risadas e choros....ah e pelas dicas de como estava o Sérgio; à Vivi pela acolhida e risadas; ao Felipe, Ana Cláudia e Luís por me ouvirem, por se alegrarem comigo, pelos ensinamentos e pelo carinho.

À Mariáurea, minha irmã de fé, minha conselheira, minha amiga, lhe agradeço pelo carinho, pela atenção e pelo amor dispensado à mim e aos meus netos.

Ao meu sempre Orientador Sérgio da Matta pela paciência, pelo cuidado e carinho, pelos ensinamentos e entendimentos.

Ao meu Orientador Cláudio Fonseca pela confiança, pelo carinho e ensinamentos.

À minha orientadora Mariella Freitas, pela acolhida em seu laboratório, pelos ensinamentos, pela infinita paciência às minhas interrupções, por me apresentar a este morcego fascinante.

À Gisele Lessa por sua amizade, por sua confiança e credibilidade e também por seu carinho comigo.

Aos meninos do laboratório, LEQ, que me fizeram companhia, não me deixando ficar triste, me incentivando, me apoiando me ajudando muito. Em especial à Bárbara, hoje aluna de mestrado do DBA, pela atenção, pelo companheirismo e pela sempre ajuda.

À Jerusa, por me levar no campo sem exigir que eu entrasse nas cavernas, pelo grande sorriso, pela força, pelas conversas, pelos ensinamentos no LEQ.

Ao meu primo Luciano, que me ajudou muito na realização deste trabalho, pelas piadas no campo, pelo exemplo de dedicação ao trabalho, por seu carinho comigo.

Aos professores do DBA, por permitirem que eu permanecesse na realização deste doutorado, pela confiança, pela credibilidade, pelo apoio e pela paciência.

Ao laboratório de Biologia Estrutural pela oportunidade e ensinamentos.

Aos funcionários do Departamento de Biologia Animal: Prof. Geraldo, Lúcia, Nilo e Seu Zé, pelo carinho que sempre me trataram, pelo exemplo de respeito ao trabalho.

Agradeço ao programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Estrutural pela confiança e oportunidade, a Universidade Federal de Viçosa por me proporcionar a oportunidade de estudar.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
INTRODUÇÃO	1
REFERÊNCIAS	12
OBJETIVO GERAL	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
CAPÍTULO 1 - Ontogênese de Ilhotas pancreáticas em <i>Desmodus rotundus</i>: adaptações morfológicas em respostas às diferentes dietas durante diferentes estágios de vida	18
RESUMO	19
INTRODUÇÃO	20
MATERIAL E MÉTODOS	21
RESULTADOS	24
DISCUSSÃO	27
REFERÊNCIAS	31
CAPÍTULO 2 - Adaptações morfológicas nos rins de morcergos-vampiro (<i>Desmodus rotundus</i>) em diferentes estágios de vida	35
RESUMO	36
INTRODUÇÃO	37
MATERIAL E MÉTODOS	38
RESULTADOS	41
DISCUSSÃO	45
REFERÊNCIAS	49
CONCLUSÕES GERAIS	53

RESUMO

RIBEIRO, Susana Puga, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2018. **Ontogênese de ilhotas pancreáticas e rins em *Desmodus rotundus*: adaptações morfológicas em respostas às diferentes dietas durante diferentes estágios de vida.** Orientador: Cláudio César Fonseca. Coorientadoras: Mariella Bontempo Duca de Freitas e Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

A dieta sangue é explorada somente por três espécies de morcegos vampiros entre os mamíferos. Considerando seu alto conteúdo proteico, várias adaptações fisiológicas são reportadas no morcego comum vampiro, *Desmodus rotundus*. O objetivo deste trabalho foi analisar a histomorfologia do pâncreas e rins de morcegos *Desmodus rotundus* durante o seu desenvolvimento, desde a fase intra-uterina, passando pela lactação, até a fase adulta, período pelo qual ocorre a transição de dietas, a fim de investigar o surgimento de mecanismos de adaptações associados à plasticidade das estruturas endócrinas pancreáticas e renais. O IPS foi maior em lactentes em relação aos fetos e em adultos, em relação aos outros dois grupos. A área proporcional das ilhotas, no entanto, foi maior em lactentes em relação aos fetos, porém menor em adultos quando comparada aos lactentes. Da mesma forma, a densidade volumétrica de ilhotas foi maior em lactente e menor em adultos. No tecido renal os resultados reportaram um aumento AG, como também uma maior $V_{\text{glomérulos}}$ e túbulos uriníferos corticais, $V_{\text{v túbulos corticais}}$ encontrados nos animais adultos em relação aos lactentes e fetos. Estes resultados justificam a hipertrofia renal e o maior IRS encontrados nos animais adultos também em relação aos lactentes e fetos. Além disso, foram analisados índices renais relacionados com a capacidade máxima de concentração urinária como o MI/C e o MT/C mostrando uma medula interna mais espessa em morcegos vampiros adultos em relação aos morcegos vampiros lactentes e fetos. Os resultados pancreáticos indicam um menor investimento em massa pancreática em adultos quando comparados a lactentes, o que pode refletir uma menor participação da regulação hormonal pancreática sobre o controle glicêmico, sendo que estas adaptações parecem ocorrer entre as fases de lactação e a fase adulta, quando a dieta de sangue torna-se exclusiva. Os resultados no tecido renal traduzem uma maior habilidade de concentração urinária em adultos em relação aos lactentes. A maior espessura da medula nos animais adultos reflete uma importante adaptação no tecido renal para suportar o ambiente azotêmico em que vive. Observamos também uma maior densidade e rearranjos de podócitos na cápsula glomerular nos animais adultos comparados aos lactentes. Trata-se de uma adaptação

morfológica provocada pelo aumento da força mecânica de distensão e cisalhamento na MBG, em consequência de um grande aumento de volume extracelular e, portanto um grande fluxo de filtração glomerular após a alimentação com uma dieta hiperproteica. Assim, nós concluímos que as alterações morfológicas reportadas nos morcegos vampiros após a transição da dieta sangue pode constituir uma programação fetal culminando nas adaptações em adultos para que este animal sobrevivesse a uma dieta de sangue.

ABSTRACT

RIBEIRO, Susana Puga, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2018. **Ontogenesis of pancreatic islets and kidneys in *Desmodus rotundus*: morphological adaptations in responses to different diets during different stages of life.** Advisor: Cláudio César Fonseca. Co-advisors: Mariella Bontempo Duca de Freitas and Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

The blood diet is exploited only by three species of vampire bats among mammals. Considering its high protein content, several physiological adaptations are reported in the common vampire bat, *Desmodus rotundus*. The objective of this work was to analyze the histomorphology of the pancreas and kidneys of bats *Desmodus rotundus* during their development, from the intrauterine phase, through lactation, to the adult stage, period through which the transition of diets occurs, in order to investigate the appearance of adaptation mechanisms associated with the plasticity of the pancreatic and renal endocrine structures. The PSI was higher in suckling vampire compared to fetuses and in adults, in relation to the other two groups. The proportionate area of the islets, however, was higher in suckling than in fetuses, but lower in adults when compared to suckling. Likewise, volumetric density of islets was higher in suckling and lower in adults. In renal tissue the results reported a GA increase, as well as a larger $V_{\text{glomerules}}$ and cortical urinary tubules, and cortical tubules found in adult animals in relation to suckling vampire and fetuses. These results justify renal hypertrophy and the highest RSI found in adult animals also in relation to infants and fetuses. In addition, renal indices related to maximal urinary concentration capacity, such as IM/C and TM/C, was analyzed showing a thicker internal medulla in adult vampire bats in relation to suckling vampire bats. Pancreatic results indicate a lower pancreatic mass investment in adults when compared to suckling vampire, which may reflect a lower participation of pancreatic hormonal regulation on glycemic control, and these adaptations seem to occur between the lactation and adult phases, when the blood diet becomes exclusive. The results in the renal tissue translate a greater ability of urinary concentration in adults in relation to suckling vampire. The increased thickness of the marrow in adult animals reflects an important adaptation in renal tissue to support the azotemic environment in which it lives. We also observed a higher density and rearrangements of podocytes in the glomerular capsule in adult animals compared to suckling. It is a morphological adaptation provoked by the increase of the mechanical force of distension and shear in the GBM, as a consequence of a large increase in

extracellular volume and, therefore, a large flow of glomerular filtration after feeding with a hyperproteic diet. Thus, we conclude that the morphological changes reported in vampire bats after the transition from the blood diet may constitute a fetal schedule culminating in adult adaptations for this animal to survive a blood diet.

1. INTRODUÇÃO

O nome morcego é derivado do latim *muris* (rato) e *coeus* (cego), e seus representantes pertencem à ordem Chiroptera, um dos grupos de mamíferos mais diversificados do mundo representando 22% das espécies de mamíferos, totalizando 1.120 espécies (REIS, 2007). Os Chiroptera são divididos em duas subordens, os Megachiroptera e os Microchiroptera (HUTSON *et al.*, 2001; SIMMONS, 2005). Os Megachiroptera não ocorrem no Brasil (SIMMONS, 2005) e são representados por 150 espécies distribuídas na região tropical da África, Índia, sudeste da Ásia e Austrália enquanto os Microchiroptera são representados por 930 espécies no mundo não ocorrendo apenas em regiões polares (HUTSON *et al.*, 2001). No Brasil representam 167 espécies, sendo superada somente pela ordem Rodentia com 237 espécies (SIMMONS, 2005).

O hábito de voar à noite permitiu aos morcegos a exploração, praticamente sem competição, de nichos durante sua evolução e diversificação, fato responsável pela grande riqueza de espécies e diferentes hábitos alimentares que incluem: frugivoria, nectarivoria, carnivoria, piscivoria, insetivoria, onivoria e, únicos entre os mamíferos, sanguivoria (hematofagia) (SANTOS, 2007).

O mais especializado morcego hematófago neotropical é o *Desmodus rotundus*, (E. Geoffoy, 1810) da ordem Chiroptera, família Phyllostomidae e subfamília Desmodontinae (Figura 1), sendo dependente exclusivamente de sangue (FENTON, 1991), uma dieta essencialmente proteica. Gomes (2008) relatou que *D. rotundus*, o morcego vampiro, absorve 92% da proteína da dieta ingerida (sangue) onde 93,1% da matéria seca é proteína e menos de 1% é carboidrato.



Figura 1. Espécie de morcego hematófago do Brasil. Exemplar adulto de *Desmodus rotundus*. Fonte: Museu Nacional, UFRJ. Fotografia de João Alves de Oliveira.

Desmodus rotundus é uma espécie de ampla distribuição geográfica sendo encontrado do sul do México, ao leste do Uruguai, incluindo todos os territórios do Brasil. (MaCNAB, 1973; KOOPMAN, 1988). Pode ser encontrado a 3.500m de altitude

acima do nível do mar e foi capturado em habitats tão diversos como florestas tropicais e paisagens semi-áridas (MARTINS *et al.*, 2007).

Lee *et al.* (2012) explicaram a distribuição de *D. rotundus* no México, América Central e América do Sul, através de algumas características ambientais que estão entre os preditos para a adequação do habitat desta espécie. A "temperatura média do mês mais frio", a "temperatura sazonal" (diferença entre verão e inverno) e as variáveis de temperatura e precipitação são consistentes com os requisitos ecológicos conhecidos de *D. rotundus*. Isso está de acordo com pesquisas anteriores, o que sugere que a distribuição desta espécie é mais limitada por temperaturas frias no inverno. O *D. rotundus* não sobreviveria em áreas com temperaturas abaixo de 15°C porque o gasto energético para sua termoregulação seria maior que o seu consumo diário de energia (MaCNAB, 1973). Este animal também prefere locais com mais de 45% de umidade, o que explica sua adequação onde a precipitação do mês mais úmido, a "precipitação sazonal" e a "precipitação do mês mais seco" não seriam limitantes (FLORES-CRESPO e ARELLANO-SOTA, 1991).

Algumas características que identificam o *D. rotundus* foram descritas por Costa (2011) relatando que os morcegos vampiro possuem folha nasal reduzida e em forma de ferradura, uropatágio rudimentar, pernas, antebraços e polegares longos, incisivos superiores longos e cortantes, lábio inferior, língua sulcada e ausência de cauda (Figura 2). E ainda, da mesma forma que os outros microquirópteros, emitem sinais de ecolocalização para orientação espacial e a audição destes, no entanto, é adaptada às frequências entre 100 Hz e 10 kHz (SCHMIDT *et al.*, 1991).

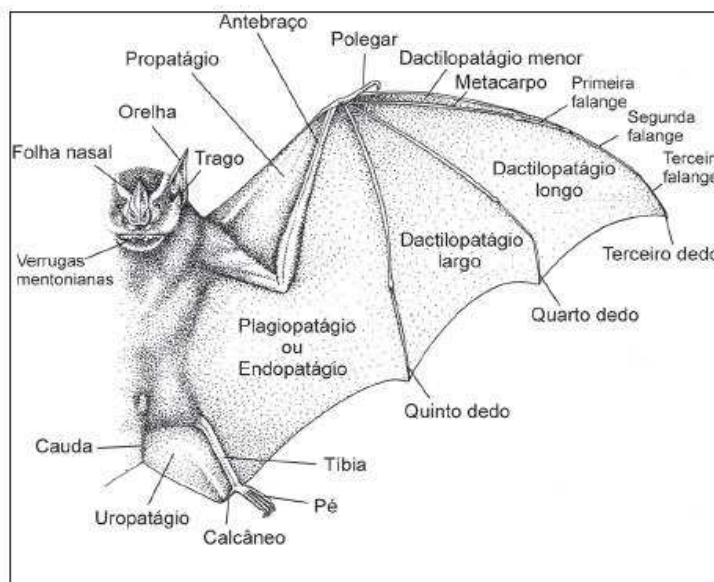


Figura 2. Representação esquemática de um morcego. Ilustração de Oscar A. Shibatta. Fonte: Livro Morcegos do Brasil/Nélio Roberto dos Reis *et al.* Londrina: Nélio R. dos Reis, 2007. 253p. Museu Nacional, UFRJ.

Na tentativa de ampliar o conhecimento das características deste animal observa-se no trabalho de DelPietro e Russo (2002) uma lista de eventos em ordem cronológica onde os autores constroem uma linha do tempo de *Desmodus rotundus* em cativeiro a qual foi expressa em duas tabelas (Figuras 3 e 4).

Tabela 1 – Dados de reprodução e ontogenia de *Desmodus rotundus* em cativeiro

	Idade ao peso do adulto (d)	Primeira gravidez (d)	Testículo escrotado (d)	Duração da gravidez (d)	Duração da lactação (d)	Fusão óssea (d)	Primeiro voo (d)	Período regurgitação (d) (**)
Animais observados em cativeiro	5	4	3	17	7	7	4	2
Mínimo	327	453	320	146	243	220	73	335
Máximo	397	558	355	155	304	310	89	361
Média	356	515	339	150	278	255	79	348
DP	26	51	17	3	19	32	7	18

Figura 3. Dados de reprodução e ontogenia de *Desmodus rotundus* em cativeiro. (d) = dias; (*) primeira observação de um jovem morcego macho apartando-se do grupo principal; (**) última observação de uma alimentação por regurgitação.

Tabela -2 Pesos de *Desmodus rotundus* em cativeiro

	Peso			
	Adultos		Recém-nascidos	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Animais observados em cativeiro	5	8	6	9
Mínimo (g)	39,5	46	8	8,2
Máximo (g)	46,3	56,7	9,5	11
Média (g)	42,9	50,6	8,5	9,6
DP	2,46	4	1	1,84

Figura 4. Valores de pesos de *Desmodus rotundus* após 30 dias de cativeiro. (g) = valores expressos em gramas.

Taddei *et al.* (1991) e Bredt *et al.* (1999) relataram a capacidade desta espécie em utilizar diferentes tipos de abrigos diurnos para sua sobrevivência. Esta espécie habita cavernas, furnas, oco de árvores, bueiros naturais em locais com erosão ou áreas florestadas, conhecidos como abrigos naturais (Figura 5A), sendo bastante versáteis adaptando-se às modificações introduzidas pelo homem ao ambiente como bueiros (Figura 5B), porão ou sótão de casas, cisternas e outras construções desabitadas (Figura 5C) (BERNARDO-PEDRO *et al.*, 2009).



Figura 5. A - Abrigos naturais; B – Bueiros; C – Túnel de mineração abandonado. Fonte: Arquivo de Dr. Luciano C. H. P. Puga.

Após o forrageamento, o morcego vampiro utiliza abrigos de pouso noturnos que são abrigos temporários, conhecidos como digestórios. Estes abrigos são chamados assim por serem locais situados entre a localização do forrageamento e o abrigo diurno e, nestes abrigos digestórios os morcegos defecam diminuindo seu peso, para continuar o voo até o abrigo diurno (UIEDA, 1982; BERNARDO-PEDRO *et al.*, 2010). Os *D. rotundus* apresentam padrão de atividade mais intenso no intervalo entre 19 e 23h sendo encontrados em todos os meses do ano, inclusive em noites frias (McNAB, 1973; KOOPMAN, 1988). O ciclo de atividade em *Desmodus* foi descrito por Wimsatt, (1969) no México, quando concluiu que o tempo máximo para o retorno do forrageamento é cerca de 2 horas após a saída do abrigo.

Taddei *et al.* (1991) delimitaram áreas de abrigos naturais de morcegos hematófagos, sendo de até três quilômetros a partir dos cursos d'água. Resultados de georreferenciamento encontrados por Mialhe (2010), em trabalho de pesquisa realizado no município de São Pedro (SP), confirmam os resultados encontrados por Taddei *et al.* (1991) constatando que a maioria dos abrigos de morcegos hematófagos vistoriados estavam situados a menos de três quilômetros de cursos d'água.

Os morcegos hematófagos, em geral, vivem em colônias (Figura 6A) com machos dominantes conhecidos como alfa (Figura 6B), formando um sistema de acasalamento de harém (REIS *et al.*, 2006). Quando aprendem a voar, os machos não dominantes são expulsos da colônia e passam a viver em poleiros isolados no mesmo abrigo ou em abrigos próximos, podendo ter atividade sexual com fêmeas de diversos abrigos na área de convívio (REIS *et al.*, 2006).

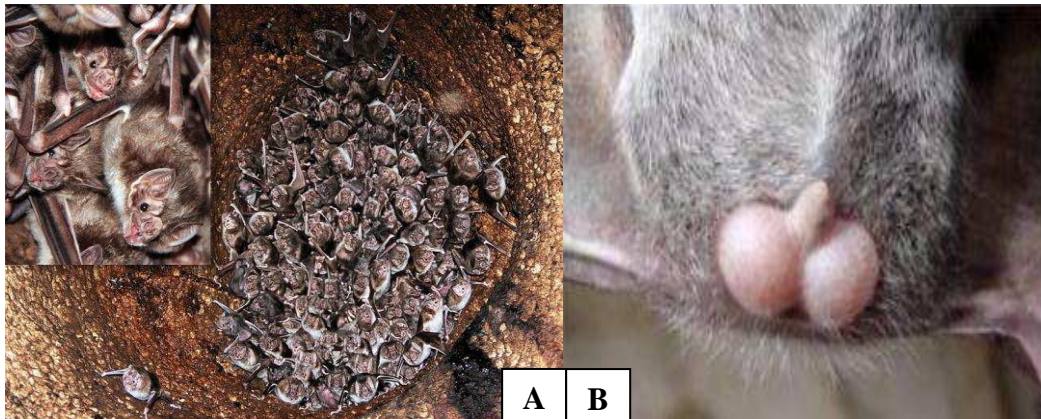


Figura 6. A - Colônia de *Desmodus rotundus*. Detalhe: *D. rotundus*. Fotografias de Emílio Calvo, Museu Nacional UFRJ. B- Macho escrotado Fonte: arquivo de Dr. Luciano C. H. P. Puga. Méd. Veterinário DSc. Fiscal Agropecuário do IMA.

Gomes e Uieda (2004), estudando a distribuição espacial de *D. rotundus* no interior de diferentes abrigos no Estado de São Paulo, concluíram que a distribuição foi similar entre si, ou seja, colônias constituídas por um a três grandes grupamentos principais e diversos outros indivíduos espalhados, isoladamente e/ou em pequenos grupos, pelo interior dos abrigos. Uieda (1982) capturou em redes armadas dentro de cavernas, no município de Curvelo (MG), somente machos de *D. rotundus* junto aos pequenos grupos de indivíduos e, fêmeas, junto ao grande grupamento desta espécie no interior da caverna. Considerando que isto possa ser verdadeiro também para colônias de outras regiões, os grandes grupamentos nas cavernas seriam constituídos de fêmeas, em diferentes estágios reprodutivos, e seus filhotes, além de um ou mais machos alfa. Os indivíduos isolados ou em pequenos grupos poderiam ser os machos solteiros, à espera de uma oportunidade para copular com as fêmeas do agrupamento principal (GOMES e UIEDA, 2004).

Desmodus rotundus é considerada uma espécie poliestral, sem um período definido de reprodução (TADDEI *et al.* 1991). O nascimento dos filhotes parece concentrar-se na estação mais quente e chuvosa (SHMIDT, 1991). Gomes e Uieda (2004) reforçaram a hipótese de que existem poucos filhotes e muitas fêmeas não grávidas, na estação seca, ao menos para as populações paulistas.

Quanto ao seu forrageamento, segundo o estudo de McFarland e Wimsatt (1969), os morcegos hematófagos em jejum chegam a ingerir até 16 ml de sangue por dia, o que representa até 40% de seu peso corporal. Durante o forrageamento, o morcego chega a urinar até 30 vezes em meia hora, acelerando a diminuição do peso adquirido durante a alimentação, facilitando o voo de volta ao abrigo (McFARLAND e WIMSATT, 1969; UIEDA, 1982).

Alguns autores relacionam este comportamento alimentar com peculiaridades na fisiologia e morfologia deste morcego, como o fato de possuírem estômago com ceco extremamente alongado e altamente dilatável. Isso permite ao *Desmodus* estocar uma quantidade considerável de sangue (ROUK e GLASS, 1970), além de possuírem na saliva um anticoagulante e um ativador plasminogênico (trombolítico) que acarreta na dissolução de coágulos sanguíneos (FERNANDEZ *et al.*, 1998; LOW *et al.*, 2013).

Em virtude do hábito sangüívoro, o morcego vampiro também é de suma importância para a saúde pública e agroeconomia na América Latina, principalmente pela transmissão de doenças como a raiva (ACHA e MÁLAGA-ALBA, 1988), pois, as presas mais comumente utilizadas por ele incluem animais de criação, como eqüinos, caprinos, suínos e bovinos (BOBROWIEC *et al.*, 2015) (Figura 7).

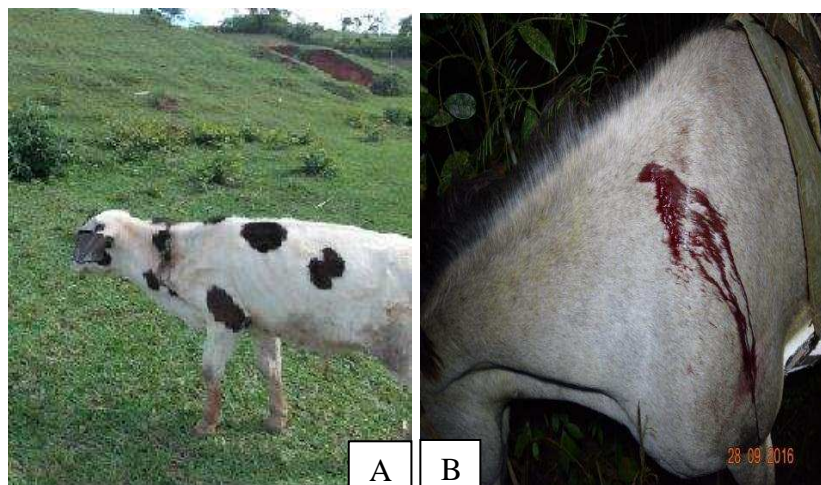


Figura 7. Animais mordidos por *Desmodus rotundus* em Santa Bárbara do Monte Verde - MG. Fonte: **A** – bovino; **B** – equino. Arquivo de Dr. Luciano C. H. P. Puga. Médico Veterinário DSc. Fiscal Agropecuário do IMA.

A hipótese de MacArthur e Pianka (1966) previu que os animais seriam mais seletivos nas suas dietas quando os alimentos são comuns, e menos seletivos quando são raros. O comportamento de *D. rotundus* parece confirmar tal predição. Tem sido frequentemente suposto que os morcegos vampiros têm hoje um suprimento mais rico de sangue de animais domésticos do que a vida selvagem autóctone teria fornecido. Este animal não apenas seleciona presas domésticas em vez de animais selvagens como também prefere tipos particulares de gado, raças, idade e sexo além de indivíduos em um estado particular de reprodução (VOIGT e KELM, 2006).

Apesar da abundância de alimentos, foi estimado que 33% da população de *D. rotundus* com menos de dois anos de vida e 7% acima desta idade, não conseguem obter alimentos toda noite (WILKINSON, 1984) e provavelmente morrerão caso não se alimentem por duas noites consecutivas devido à sua capacidade limitada de armazenar energia (FREITAS *et al.*, 2003). Para evitar esta ausência de alimento o comportamento social e a partilha do alimento através da regurgitação, tem sido frequentemente observado entre membros da mesma unidade social (WILKINSON, 1984). Assim sendo, um morcego com fome pode recuperar 20% de sua massa perdida em 24 h de jejum ao receber regurgitações de um morcego que se alimentou (CARTER e WILKINSON, 2013). Os custos do compartilhamento, ou seja, a regurgitação são baixos comparados aos altos benefícios recebidos (WILKINSON, 1984). A partilha de alimento entre *D. rotundus*, envolve na maioria das vezes, mães regurgitantes para jovens dependentes. No entanto, morcegos adultos bem alimentados poderão regurgitar

alimento para morcegos com necessidade independentemente da idade ou sexo (CARTER e WILKINSON, 2013).

O comportamento social do morcego vampiro, a alimentação compartilhada através da regurgitação e o estômago altamente dilatável, são adaptações capazes de fornecer nutrientes suficientes não apenas para o doador, mas também para quem recebe o alimento, (ROUK e GLASS, 1970). Além disso, devido às especializações do seu hábito alimentar e comportamento, o *D. rotundus* exige grande capacidade integrativa do cérebro e assim, o neocórtex e o cerebelo são mais desenvolvidos que em outras espécies de morcegos (BHATNAGAR, 2015).

Respostas metabólicas de vertebrados, que se alimentam naturalmente com dieta rica em proteínas, como os carnívoros, ou em animais adaptados experimentalmente a este tipo de dieta, foram estudadas por vários pesquisadores (MACHADO *et al.*, 1988; BORREBAECK e CHRISTOPHERSEN, 2000). A maior parte dos autores observou que estes animais apresentaram menores reservas de glicogênio hepático, lipogênese reduzida e grande atividade neoglicogênica, sinalizando para o importante papel da dieta na definição do padrão metabólico (FREITAS *et al.*, 2005).

Freitas *et al.*(2003) em seus estudos envolvendo aspectos metabólicos de *D. rotundus* encontrou que a concentração de glicose plasmática em *D. rotundus* alimentados (90mg/dl) era similar à observada em outros mamíferos, como por exemplo os humanos alimentados (CRYER, 1991). Porém, estes animais apresentaram uma grande fragilidade à restrição alimentar, diminuindo a glicemia plasmática, após 24h de jejum, para 30mg de glicose/100 ml de plasma, após 24 horas de jejum, valores que entre mamíferos são incompatíveis com a sobrevivência (FREITAS *et al.*, 2003).

Além disso, Freitas *et al.* (2003) constataram que a mobilização de AGL (ácidos graxos livres) e as reservas proteicas do morcego vampiro, apresentaram resistência ao jejum, resultando inclusive em menor concentração plasmática de AGL, diferente do observado para a maioria dos vertebrados. Estes resultados sugerem que estas reservas parecem não contribuir de maneira importante para o fornecimento de aminoácidos para a neoglicogênese, processo frequentemente ativado na resposta ao jejum na maior parte dos vertebrados (FREITAS *et al.*, 2005) (Figura 8).

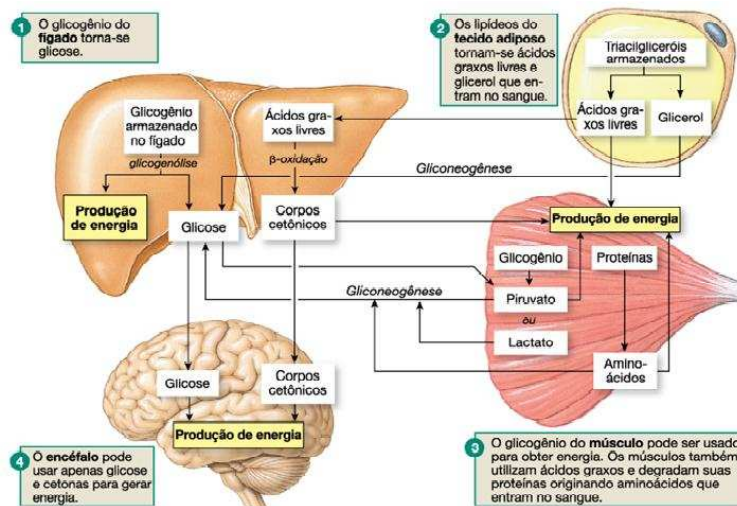


Figura 8. Metabolismo no estado de jejum. Fonte: Fisiologia Humana, Dee Unglaub Silverthorn.

Em uma abordagem mais ampla, Freitas *et al.* (2005) sugeriu que o padrão metabólico de *D. rotundus* é bastante distinto do apresentado pela maior parte dos vertebrados e poderia estar associado à dieta e também ao comportamento social solidário (regurgitação de sangue) adquirido entre os vampiros. Talvez este fator social somado às modificações ambientais provocadas por ação humana como aumento da criação de gado bovino tem garantido o sucesso evolutivo da espécie colaborando para o aumento das suas populações.

Independentemente do tipo de dieta consumida, animais apresentam diversos mecanismos regulatórios comuns para a obtenção de glicose, com algumas variações (FREITAS *et al.*, 2005). A ativação das diferentes vias metabólicas depende tanto do estado nutricional quanto do tipo da dieta ingerida (QUEIROZ, 2008). Dietas ricas em carboidratos apresentam níveis glicêmicos mais altos, havendo estímulo para que a glicose seja utilizada como fonte de energia. Neste tipo de dieta o controle hormonal após a ingestão alimentar é exercido pela insulina, cuja secreção pelas células beta pancreáticas é estimulada pelo aumento da glicose sistêmica (DEFRONZO *et al.*, 1979).

Por outro lado, animais que se alimentam com dietas ricas em proteínas apresentam durante o período absorptivo níveis glicêmicos menores do que animais que consomem dietas ricas em carboidratos (HABER *et al.*, 2001). O grande afluxo de aminoácidos da dieta estimula inicialmente a secreção de glucagon pelas células alfa pancreáticas (QUEIROZ, 2008). Este hormônio por sua vez, ativa a neoglicogênese (Figura 9), resultando em aumento da glicemia, o que induz a liberação de insulina de forma mais eficiente. Concordando com este achado Linn *et al.* (2000) concluíram que uma dieta altamente proteica aumenta a capacidade de secreção de insulina, devido à neoglicogênese, confirmando a associação da dieta e a regulação hormonal do metabolismo energético.

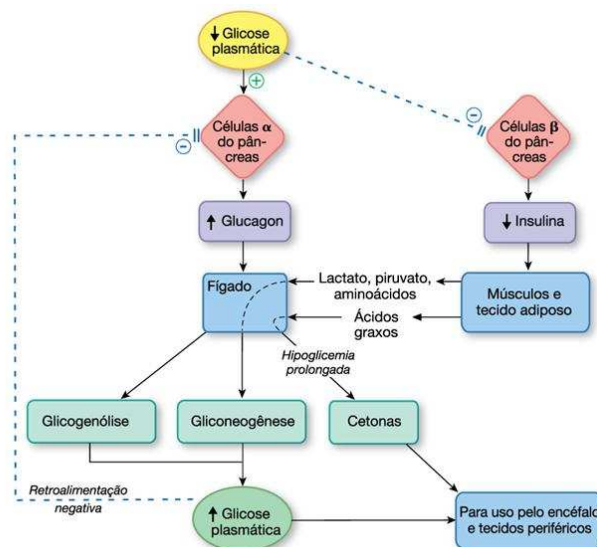


Figura 9. Resposta à hipoglicemia. Fonte: Fisiologia Humana, Dee Unglaub Silverthorn

Entretanto, Freitas *et al.* (2005) observou em *D. rotundus* que a secreção de insulina em fragmentos de pâncreas em meios contendo baixas (2,8mM) e altas (16,7mM) concentrações de glicose e em meios contendo concentração baixa de glicose somada aos aminoácidos leucina e glicina não provocaram liberação significativa de insulina para o meio, mostrando talvez baixa importância da glicose e aminoácidos na indução da secreção de insulina neste animal, diferente do observado em diversos mamíferos, inclusive o ser humano (LATORRACA *et al.*, 1999; NOGUEIRA *et al.*, 2005). Mais tarde, Freitas *et al.* (2013) constataram que os níveis séricos de insulina em morcegos vampiro alimentados eram 2 a 3 vezes menores que o de ratos alimentados, adaptados a uma dieta muito rica em proteína (50%), contradizendo mais uma vez o esperado para um animal cuja dieta, sangue, possui grande concentração de proteína.

Adaptações do pâncreas associadas à dieta têm sido reportadas em morcegos frugívoros como *Rousettus aegyptiacus* (MICHELMORE e KEEGAN, 1998) e em *Artibeus lituratus* (PROTZEK, 2010). Protzek (2010) concluiu que a presença de uma grande distribuição de células beta em *Artibeus lituratus*, morcego frugívoro, é uma adaptação que garante o controle da homeostase glicêmica, pois estes animais são constantemente submetidos a um alto influxo de glicose devido a sua dieta rica em carboidratos. Assim como em *R. aegyptiacus*, que também é frugívoro, o pâncreas endócrino representa 9,1% do volume total do pâncreas, além de grandes proporções de células α e β no interior das ilhotas (MICHELMORE e KEEGAN, 1998). Estes trabalhos confirmam o achado por Fonseca *et al.* (2004) em gambá sul americano (*Didelphis albiventris*) que observaram menor percentual de ilhotas pancreáticas no adulto (onívoro) que nos lactentes, cuja a dieta tem maior proporção de carboidratos.

No entanto, Freitas *et al.* (2013) analisando *D. rotundus* revelaram que estes animais apresentaram uma porcentagem de células α e β no interior das ilhotas, duas vezes menor do que a expressada em humanos, camundongos e ratos constatando um padrão singular desta espécie ainda não observado em qualquer outro mamífero. Estes

dados encontrados nos morcegos vampiros que possuem uma dieta altamente proteica comparado aos dados citados de *A. lituratus* e *R. aegyptiacus* sugerem a importância da dieta no padrão metabólico assumido evolutivamente por estes animais (FREITAS *et al.*, 2013).

Como já mencionado, dietas com altas taxas de proteína podem causar adaptações e efeitos adversos nos animais. Patil *et al.* (2015), observando morcegos com diferentes dietas concluíram que a ecologia de um animal está correlacionada com a estrutura e fisiologia do sistema urinário em diversos mamíferos.

Singer *et al.* (2001) relatam, que o morcego vampiro, devido a sua dieta, tem a taxa de excreção de nitrogênio 33 vezes maior do que teria outro mamífero de tamanho semelhante, com dieta sem restrições ao nitrogênio, com poucos ajustes na sua taxa de filtração glomerular (TFG). Nesta mesma revisão o autor sugere que *D. rotundus* seja um animal azotêmico, pois McFARLAND e WIMSATT (1969) trabalhando com o morcego vampiro encontraram uma concentração de ureia no sangue de 27 a 50 mmol/l em animais alimentados entre 30 min e 24h. A razão encontrada (0,83), entre TFG e excreção urinária de nitrogênio é insuficiente para manter as concentrações de ureia no sangue dentro da normalidade (2-10 mmol / l) em outros mamíferos de mesmo porte. Singer (2002) relata que *D. rotundus* possui certamente adaptações fisiológicas para suportar altos níveis de amônia e que a adaptação aparente no morcego vampiro é uma supressão quase completa do resgate de nitrogênio através do mecanismo de hidrólise intestinal. Este fato pode ser devido à redução da atividade da urease microbiana causada pela amônia elevada além de baixo substrato energético (HARLOW e BRAUN, 1997). Porém, Mendoza *et al.* (2018) trabalhando com adaptações hologenômicas do morcego vampiro adulto, confirmam em seu trabalho que a grande quantidade de proteínas no sangue e a sua rápida ingestão podem levar ao acúmulo de resíduos nitrogenados, principalmente ureia, o que poderia levar a doenças renais como por exemplo a pressão alta e retenção de líquidos. Entretanto, os autores através de análises dos genes envolvidos no metabolismo de aminoácidos distinguem o morcego vampiro das outras espécies de morcegos analisadas, sugerindo outra adaptação em relação à dieta hiperproteica deste animal: a capacidade especializada dos microorganismos de serem ativos no metabolismo de aminoácidos, pois também foi identificado aumento da expressão da subunidade alfa da urease do gene microbiano dos morcegos hematófagos envolvida na degradação da ureia.

Filhotes de *D. rotundus*, assim como todos os mamíferos, se alimentam de leite, que apresenta uma proporção balanceada de proteínas, gorduras, carboidratos, vitaminas e sais minerais, proporcionando um desenvolvimento adequado nesse estágio de vida (REIS *et al.*, 2006). Huibregtse (1963), avaliando o leite de morcegos com dietas diferentes, observou que leite de morcegos com dieta proteica, como insetívoros, possui leite com maior conteúdo de proteínas em relação ao leite de morcegos frugívoros, porém ainda muito menor que a dieta de sangue utilizada na fase adulta dos morcegos hematófagos. Portanto, de acordo com o hábito alimentar, *D. rotundus* se utiliza de diferentes dietas em relação ao conteúdo de carboidratos e proteínas em suas diferentes fases de vida.

As adaptações morfofisiológicas em *D. rotundus* associadas à plasticidade das células pancreáticas e de estruturas renais, são adaptações inatas da espécie ou adquiridas em decorrência da sua dieta diferenciada em suas fases de vida? Para responder esta pergunta, este trabalho avalia as diferenças morfofisiológicas pancreáticas e renais nas três etapas de vida (feto, lactente e adulto) de *D. rotundus* buscando entender a razão das diferenças no seu padrão metabólico.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; MÁLAGA-ALBA, A. Economic losses due to *Desmodus rotundus*. In: GREENHALL, A.M. e SCHIMIDT, U. (eds). Natural history of vampire bats. Boca Raton, CRC Press, 14, 246p, 1988.
- BERNARDO-PEDRO T.; VIEIRA L. F. P.; GONÇALVES-PEREIRA S. R. F. Mapeamento de abrigos de morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus* e *Diphylla ecaudata*) no Norte Fluminense e Sul do Espírito Santo. In: II Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica. Ciência Animal Brasileira, p.119-120, 2009.
- BOBROWIEC, P. E. D.; LEMES, M.R.; GRIBEL, R. Prey preference of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*, Chiroptera) using molecular analysis. Journal of Mammalogy, 96, 1, p.54–63, 2015.
- BORREBAEK, B.; CHRISTOPHERSEN, B. Hepatic glucose phosphorylating activities in perch (*Perca fluviatilis*) after different dietary treatments. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, 125, p.387–393, 2000.
- BREIDENSTEIN, C. P. Digestion and assimilation of blood by a vampire bat (*Desmodus rotundus*). Journal of Mammalogy, 63, 3, p.482-484, 1982.
- BREDT, A.; W. UIEDA; MAGALHÃES, E.D. Morcegos cavernícolas da região do Distrito Federal, Centro Oeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). Revista Brasileira de Zoologia Curitiba, 16, 3, p.731–770, 1999.
- BHATNAGAR, K. P. The brain of the common vampire bat, *Desmodus rotundus murinus* (Wagner, 1840): a cytoarchitectural atlas. Brazilian Journal Biology, 68, 3, p.583-599, 2008.
- CARTER, G. G.; WILKINSON, G. S. Food sharing in vampire bats: reciprocal help predicts donations more than relatedness or harassment. Proceedings Royal Society B, 280p, 2012.
- COSTA, P. P. Ecologia molecular de *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae) no Parque Estadual de Campinhos, Paraná, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Zoologia) - Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brasil, 2011.
- CRYER, P. E. Regulation of glucose metabolism in man. Journal International of Medicine, 229, 2, p.31-39, 1991.

DeFRONZO, R.; DEIBERT, D.; HENDLER, R.; FELIG, P. Insulin Sensitivity and Insulin Binding to Monocytes in Maturity-Onset Diabetes. *Journal Clinical Investigation*, 63, p.939-946, 1979.

DELPIETRO, H. A.; RUSSO, R.G. Observations of the common vampire bat and *Diphylla* in captivity. *Mammalian Biology*, 67, p.65 -78, 2002

FENTON, M. B. Wounds and the origin of blood-feeding in bats. *Biological Journal of the Linnean Society*, 47, p.161-171., 1991.

FONSECA, C. C.; Nogueira, J. C.; Barbosa, A. J. A. Pancreatic islets diameter of the intramarsupial developing opossum (*Didelphis albiventris*). *Archives of Veterinary Science*, 7, 2, p.129-134, 2002.

FLORES-CRESPO R.; AREALLANO-SOTA C. Biology and control of vampire bat, p. 462-474. In: *Biology and control of the vampire bat*. In: Baer GM editor. *The natural history of rabies*. Florida: CRC Press Incorporation, p.461–476, 1991.

FREITAS, M. B. Avaliação dos padrões metabólicos induzidos por diferentes tipos de dietas em diversas ordens de vertebrados. Monografia (Especialização) - Faculdade de Ciências da Saúde do Centro Universitário de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 2003.

FREITAS, M. B.; CEJANA B.C.; PASSOS, R.B.; VASCONCELOS, E.C.P. Effects of short-term fasting on energy reserves of vampire bats (*Desmodus rotundus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 140, p.59–62, 2005.

FREITAS, M. B.; QUEIROZ, J.F.; GOMES, C.I.D.; COLLARES-BUZATO, C.B.; BARBOSA, H.C.; BOSCHERO, A.C.; GONÇALVES, C.A.; PINHEIRO, E.C. Reduced insulin secretion and glucose intolerance are involved in the fasting susceptibility of common vampire bats. *General and Comparative Endocrinology*, 183, p.1–6, 2013.

GOMES, C. I. D. Metabolismo energético e resposta ao jejum do morcego hematófago *Diphylla ecaudata*. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Medicina, Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2008.

GOMES, M. N.; UIEDA, W. Abrigos diurnos, composição de colônias, dimorfismo sexual e reprodução do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy) (Chiroptera, Phyllostomidae) no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 21, 3, p.629–638, 2004.

HABER, E. P.; CURII, R.; CARVALHO, C. R.O.; CARPINELLI, A. R. Secreção da Insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxos. Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica, 45, 3, 2001.

HARLOW, H. J.; BRAUN, E.J. Gastric Na⁺/K⁺ ATPase activity and intestinal urea hydrolysis of the common vampire bat, *Desmodus rotundus*. Comparative Biochemistry and Physiology, 118A, p.665–669, 1997.

HUTSON, A. M.; MICKLEBURGH, S.P.; RACEY, P.A. (comp.). In: Biology, Ecology, and Systematics of Microchiropteran Bats. IUCN/SSC Chiroptera Specialist Group. Microchiropteran bats: global status survey and conservation action plan. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 258p, 2001.

HUIBREGTSE, W. H. The composition of bat milk: a chemical analysis. Tese (Master of Science) – In the Graduate College the University of Arizona. Arizona, 48 p, 1963.

KOOPMAN, K. F. Systematics and distribution. In: GREENHALL, A.M. e SCHIMIDT, U. (eds). Natural history of vampire bats. Boca Raton, CRC Press, 246, p.7-17, 1988.

LATORRACA, M. Q.; MELLO, E.M.; BOSCHERO, A.C. Reduced insulin secretion in response to nutrients in islets from malnourished young rats is associated with a diminished calcium uptake. Journal of Nutritional Biochemistry, 10, p.37–43, 1999.

LEE, D. N.; PAPES, M.; VAN DEN BUSSCHE, R. A. Present and Potential Future Distribution of Common Vampire Bats in the Americas and the Associated Risk to Cattle. PLoS ONE, 7, 8, 42466, 2012.

LINN, T.; SANTOSA, B.; GRONEMEYER, D.; AYGEN, S.; SCHOLZ, N.; BUSCH, M.; BRETZEL, R.G. Effect of long-term dietary protein intake on glucose metabolism in humans. Diabetologia, 43, 10, p.1257-1265, 2000.

LOW, D. H. W.; SUNAGAR, K.; UNDHEIM, E.A.B.; ALI, S. A.; ALAGON, A. C.; RUDER, T.; JACKSON, T. N. W. ; GONZALEZ, S. P.; KING, G. F.; JONES, A.; ANTUNES, A.; FRY, B. G. Dracula's children: Molecular evolution of vampire bat venom. Journal of Proteomics, 89, p.95-111, 2013.

MacARTHUR, R. H.; PIANKA, E. R. The Theory of Island Biogeography. American Nature. 100, p.603-609, 1966.

McNAB, B. K. Energetics and the distribution of vampire bats. Journal of Mammalogy, 54, p.131-134, 1973.

MARTINS, F. P. Filogeografia intraespecífica do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae). Tese (Doutorado) Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo – Departamento de Genética e Biologia Evolutiva. São Paulo, 2008.

McFARLAND, W. N.; WIMSATT, W. A. Renal function and its relation to the ecology of the vampire bat, *Desmodus rotundus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 28 (3), p.985–1006, 1969.

MENDOZA, M.L.Z.; XIONG, Z.; ESCALERA-ZAMUDIO, M.; RUNGE, A.K.; THÉZÉ, J.; STREICKER, D.; FRANK, H.K.; LOZA-RUBIO, E.; LIU, S.; RYDER, O.A.; CASTRUITA, J.A.S.; KATZOURAKIS, A.; PACHECO, G.; TABOADA, B.; LÖBER, U.; PYBUS, O.G.; LI, Y.; ROJAS-ANAYA, E.; BOHMANN, K.; BAEZ, A.C.; ARIAS, C.F.; LIU, S.; GREENWOOD, A.D.; BERTELSEN, M.F.; WHITE, N.E.; BUNCE, M.; ZHANG, G.; SICHERITZ-PONTÉN, T.; GILBERT, M.P.T. Hologenomic adaptations underlying the evolution of sanguivory in the common vampire bat. *Nature Ecology & Evolution*, 2, p.659–668, 2018.

MIALHE, P. J. Análise e caracterização de ataques a rebanhos por morcegos *Desmodus rotundus* no município de São Pedro (São Paulo, Brasil); São Carlos: UFSCAR, 95f, 2010.

MICHELMORE, A. J.; KEEGAN, D. J.; KRAMER, B. Immunocytochemical identification of endocrine cells in the pancreas of the fruit bat, *Rousettus aegyptiacus*, *General and Comparative Endocrinology*, 110, p.319–325, 1998.

NOGUEIRA, T. C. A.; FERREIRA, F.; TOYAMA, M.; STOPPIGLIA, L. F.; MARANGONI, S.; BOSCHERO, A. C.; CARNEIRO E.M. Characterization of the insulinotropic action of a phospholipase A2 isolated from *Crotalus durissus collilineatus* rattlesnake venom on rat pancreatic islets. *Toxicon*, 45, p.243–248, 2005.

PATIL, K. G. Anatomy of Ureter, Urinary Bladder and Urethra in Relation to Dietary Habit in Bats: *Rousettus leschenaulti* (Desmarest), *Megaderma lyra lyra* (Geoffroy) and *Hipposideros seoris* (Schnider). *World Journal of Zoology*, 10, 2, p.89-93, 2015.

PROTZEK, A. O. P. ; RAFACHO, A.; VISCCELLI, B.A.; BOSQUEIRO, J.R.; CAPPELLI, A.P.; PAULA, F.M.M.; BOSCHERO, A.C.; PINHEIRO, E.C. Insulin and glucose sensitivity, insulin secretion and b-cell distribution in endocrine pancreas of the fruit bat *Artibeus lituratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, A, 157, p.142–148, 2010.

QUEIROZ, J. F. Secreção e sensibilidade periférica à insulina e hormônios contra regulatórios do morcego hematófago *Desmodus rotundus*. Dissertação (Mestrado em

Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2008.

REIS, N. R. Sobre os Morcegos do Brasil. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (eds). Morcegos do Brasil. Londrina, 253p, 2006.

ROUK, C.S.; GLASS, B.P. Comparative gastric histology of five north and central American bats. *Journal Mammalogy*, 51, p.455–472, 1970.

SANTOS, C. M. Estudo imunohistoquímico das células endócrinas do tubo gastrintestinal de morcegos (Mammalia, Chiroptera). Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Biologia, Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

SCHMIDT, U.; SCHLEGE P.; SCHWEIZER, H.; NEUWEILER G. Audition in vampire bats, *Desmodus rotundus*. *Journal Comparative Physiology A*, 168, p.45-51, 1991.

SIMMONS, N. B. Order Chiroptera. In: WILSON, D.E.; REEDER, D.M. (eds.). *Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic reference*. 3ed. Baltimore: Johns Hopkins University 25 Press, 1, p.321-529, 2005.

SINGER, M. A. Vampire bat, shrew, and bear: comparative physiology and chronic renal failure. *American Journal Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 282, p.R1583–R1592, 2002.

TADDEI, V. A.; C. A. GONÇALVES; W. A. PEDRO; W. J. TADEI; I. KOTAIT; C. ARIETA. Distribuição do morcego vampiro *Desmodus rotundus* no Estado de São Paulo e a raiva dos animais domésticos. Campinas, Impresso Especial da CATI, 107p.

UIEDA, W. Aspectos do comportamento alimentar das três espécies de morcegos hematófagos (Chiroptera, Phyllostomidae). Dissertação (Mestrado) Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1982.

VOIGT, C. C.; KELM, D. H. Host preference of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*; Chiroptera) assessed by stable isotopes. *Journal of Mammalogy*, 87, 1, p.1–6, 2006.

WILKINSON, G. S. Reciprocal food sharing in the vampire bat. *Nature Publishing Group*, 308, p.181-184, 1984.

WIMSATT, W. A. Transient behavior, nocturnal activity patterns, and feeding efficiency of vampire bats (*Desmodus rotundus*) under natural conditions. *Journal of Mammalogy*, 50, p.233-244, 1969.

OBJETIVO GERAL

Analisar a histomorfologia do pâncreas e dos rins de morcegos *Desmodus rotundus* associada às diferentes dietas desse animal durante seu estágio de vida, desde a fase fetal até a fase adulta, a fim de avaliar os mecanismos de adaptação associados à plasticidade das ilhotas pancreáticas e estruturas renais em resposta às dietas características destas fases (feto, lactente e adulto).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a morfologia do pâncreas na fase fetal, em lactentes e adultos;
- Analisar a morfologia das ilhotas pancreáticas na fase fetal, em lactentes e adultos;
- Analisar a distribuição de células beta nas ilhotas pancreáticas de *D. rotundus*;
- Estimar a porcentagem das ilhotas por tecido pancreático através da morfometria do pâncreas de *D. rotundus* na fase fetal, em lactentes e adultos;
- Estimar a densidade volumétrica da ilhota;
- Estimar o volume de ilhotas no tecido pancreático;
- Estimar a porcentagem de glomérulos e túbulos corticais através da morfometria do tecido renal de *D. rotundus* na fase fetal, em lactentes e adultos;
- Estimar a densidade volumétrica dos glomérulos e túbulos renais;
- Analisar a habilidade de concentração da urina através de índices calculados no tecido renal de *D. rotundus* na fase fetal, lactentes e adultos.

CAPÍTULO 1

Ontogênese de Ilhotas pancreáticas em morcegos vampiros: adaptações morfológicas em diferentes estágios de vida

Ontogênese de Ilhotas pancreáticas em morcegos vampiros: adaptações morfológicas em diferentes estágios de vida

RESUMO

O morcego vampiro comum adulto (*Desmodus rotundus*) se alimenta exclusivamente de sangue de mamíferos. Esta dieta altamente exclusiva e especializada é acompanhada de uma série de adaptações morfológicas no sistema gastro-entérico, em função de seu alto conteúdo proteico. O objetivo deste trabalho foi analisar a histomorfologia do pâncreas de morcegos *Desmodus rotundus* durante o seu desenvolvimento, desde a fase intra-uterina, passando pela lactação, até a fase adulta, período pelo qual ocorre a transição de dietas, a fim de investigar o surgimento de mecanismos de adaptações associados à plasticidade das estruturas endócrinas pancreáticas. Nossos resultados mostraram que a área individual média das ilhotas foi de 1.325,63 (fetos), 2.132,33 (lactentes) e 1.644,77 μm^2 (adultos). A distribuição de células β no interior da ilhota foi localizada na sua porção central. As ilhotas foram classificadas, nos três estágios de vida, em pequenas, médias e grandes. De 100 ilhotas analisadas nas secções dos pâncreas pode-se observar que em fetos 32% foram pequenas ($\leq 1000 \mu\text{m}^2$), 75,4% intermediárias (entre 1000 e 3000 μm^2) e 2,6% grandes ($\geq 3000 \mu\text{m}^2$). Quanto aos lactentes observou-se 10% pequenas, 68,3% intermediárias e 21,7% grandes e em adultos a proporção foi 12%, 63,4% e 24,6% respectivamente. O índice pancreossomático (IPS) foi maior em lactentes em relação aos fetos, e em adultos em relação aos outros dois grupos. A área proporcional das ilhotas, no entanto, foi maior em lactentes em relação aos fetos, porém menor em adultos quando comparada aos lactentes. Da mesma forma, a densidade volumétrica de ilhotas foi maior em lactente e menor em adultos. Estes resultados indicam um menor investimento em massa pancreática em adultos quando comparados a lactentes, o que pode refletir uma menor participação da regulação hormonal pancreática sobre o controle glicêmico, sendo que estas adaptações parecem ocorrer entre as fases de lactação e a fase adulta, quando a dieta de sangue torna-se exclusiva.

Palavras-chave: morcegos sanguívoros, dieta proteica e plasticidade do tecido pancreático.

1. INTRODUÇÃO

Animais apresentam diversos mecanismos regulatórios comuns para a obtenção de glicose, independentemente do tipo de dieta consumida, com algumas variações (FREITAS *et al.*, 2005). A ativação das diferentes vias metabólicas é altamente regulada por mecanismos diversos (ZHAO *et al.*, 2009) e depende tanto do estado nutricional do animal quanto do tipo da dieta ingerida (CHEVIER *et al.*, 2016). Dietas ricas em carboidratos (HC) produzem níveis glicêmicos mais altos, havendo estímulo para que a glicose seja utilizada como fonte de energia. Neste tipo de dieta o controle hormonal após a ingestão alimentar é exercido pela insulina, cuja secreção pelas células beta pancreáticas é estimulada pelo aumento da glicose sistêmica (DeFRONZO *et al.*, 1979).

Animais que se alimentam com dietas ricas em proteínas (HP) apresentam durante o período absorptivo, níveis glicêmicos menores do que animais que consomem dietas HC (HABER *et al.*, 2001). O grande afluxo de aminoácidos da dieta estimula inicialmente a secreção de glucagon pelas células alfa pancreáticas (CHEVIER *et al.*, 2016). Este hormônio por sua vez, ativa a neoglicogênese, resultando em aumento na produção hepática de glicose a partir de aminoácidos vindos da dieta (BANKIR, 2015). Investigações realizadas em indivíduos diabéticos tipo I e saudáveis, sugeriram que o consumo a longo prazo de uma dieta HP aumenta a produção de glicose hepática e a secreção pancreática de insulina, confirmando a associação da dieta e a regulação hormonal do metabolismo energético (LINN *et al.*, 2000).

A diversidade trófica da família Chiroptera destaca-se de outras famílias de mamíferos. Esta diversidade inclui sangue, peixes, insetos e pequenos mamíferos, dietas HP, frutos e néctar, dietas (HC). A capacidade de obter energia adequada a partir destas dietas é devida as modificações morfo-fisiológicas e adaptações no sistema gastrointestinal e na porção endócrina do pâncreas desses animais (KEEGAN *et al.*, 1979). Estas adaptações do pâncreas foram relatadas para morcegos frugívoros, como *Rousettus aegyptiacus* (MICHELMORE *et al.*, 1998) e *Artibeus lituratus* (PROTZEK *et al.*, 2010) nos quais o pâncreas endócrino representa 9,1% do volume total, muito maior do que em alguns outros mamíferos, além de uma grande distribuição de células β observada nas ilhotas, respectivamente. Estas adaptações garantem o controle adequado da homeostase glicêmica nestas espécies, que são constantemente submetidas a alto influxo de glicose devido à sua dieta HC.

As reservas de carboidratos, lipídios e proteína de vários mamíferos incluindo morcegos mantêm a homeostase glicêmica para a sobrevivência destes animais em jejum (PINHEIRO *et al.*, 2006). Neste contexto, animais alimentados com dietas HP, não apresentam, no jejum, uma queda inicial da glicemia tão pronunciada comparado aos animais que consomem dietas HC. Assim a glicemia permanece relativamente constante, apesar de menor mobilização de glicogênio hepático (FREITAS *et al.*, 2013). A neoglicogênese continua tão ativa quanto em animais alimentados, sendo sempre maior quando comparada aos animais adaptados às dietas ricas em carboidratos (SILVA e MIGLIORINI, 1990).

Morcegos hematófagos que ingerem dieta HP (93,1% de proteína) (BREIDENSTEIN, 1982), não são capazes de viver muito mais do que 24 horas sem alimento devido a uma deficiente via neoglicogênica (GOMES, 2008). Estes morcegos apresentam valores glicêmicos menores que 50mg/ dL (3mmol/L) de plasma que são considerados incompatíveis com a sobrevivência em mamíferos (KRAUS-FRIEDMANN, 1984). Além disso, possuem pequena reserva de glicogênio e lipídio, e baixas concentrações de insulina plasmática e pancreática o que faz dele um animal

metabolicamente frágil (FREITAS *et al.*, 2013). O tipo de reserva energética usada por estes vampiros, suas concentrações e localizações ainda são desconhecidas.

Desmodus rotundus, o morcego vampiro comum, tem sido de particular interesse com respeito aos estudos de vias metabólicas utilizadas para manter sua homeostasia glicêmica, baseando-se em que o seu único hábito nutricional fornece uma dieta elevada em produtos nitrogenados, alta em ferro, e normalmente baixo em carboidratos e gorduras. Como este morcego tem resolvido fisiologicamente este problema nutricional e ainda, como consegue manter a sua posição ecológica, formando grandes populações adaptadas aos locais onde habita?

Adaptações morfológicas e fisiológicas observadas em *D. rotundus* adultos parecem ocorrer como consequências de sua dieta específica, porém o morcego vampiro se utiliza de diferentes dietas em relação ao conteúdo de proteínas e carboidratos em diferentes estágios de vida (ausência de ingestão de dieta: feto; ingestão de leite: lactente; ingestão de sangue: adultos). Baseado no fato que a dieta leva a adaptações morfo-funcionais na estrutura do trato gastroentero-pancreático e ainda pelo fato de que nada se sabe sobre a cronologia destas adaptações em morcegos vampiros, o objetivo deste trabalho foi analisar a histomorfologia do pâncreas desta espécie desde a fase fetal até a fase adulta, a fim de avaliar os mecanismos de adaptações associados à plasticidade das estruturas endócrinas pancreáticas em resposta às dietas características destas fases.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A utilização dos animais experimentais deste trabalho foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa (protocolo 22/2016) e Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO n. 53265-1).

2.1 Animais

Foram capturados 21 morcegos da espécie *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae), sendo 7 fêmeas adultas grávidas, 7 fêmeas adultas não-grávidas, 7 lactentes e 7 fetos, na região de Tabuleiro (Latitude: 21°23'12,3"; Longitude: 43°16'40,8"), Zona da Mata, MG, durante o período de outubro a dezembro do ano de 2016 (Figura 1). A captura foi feita com o auxílio de redes de neblina armadas na entrada de cavernas da região, onde a espécie é comumente encontrada (Figura 2).

Após a captura, os animais foram transportados em gaiolas de ferro (45 × 22 cm) ao Morcegário no Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa (UFV) onde permaneceram até a manhã seguinte, quando iniciaram os experimentos.

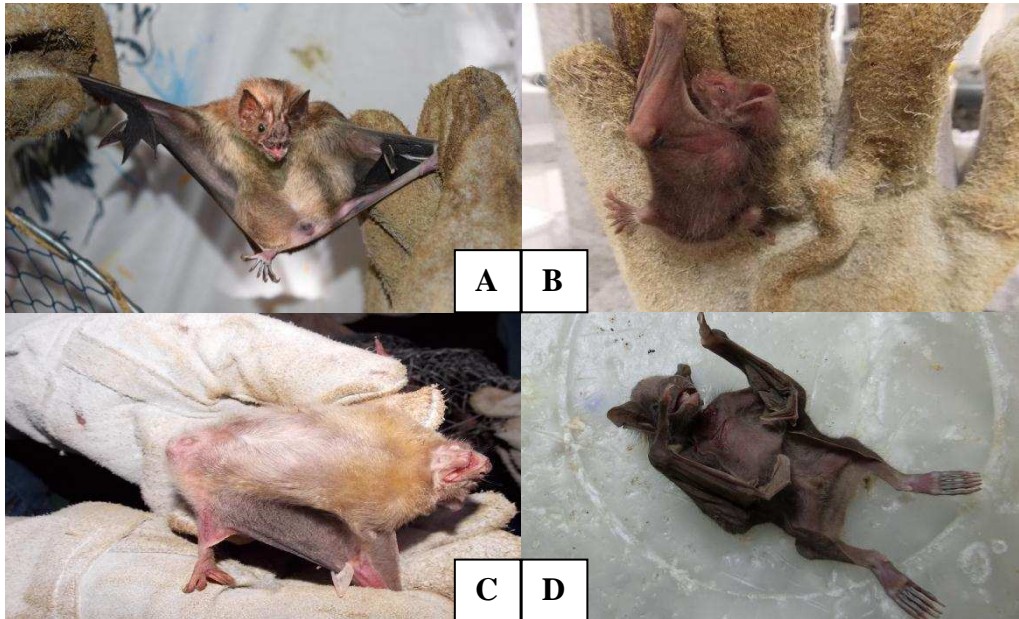


Figura 1. Morcego hematófago, *Desmodus rotundus*, coletados na região de Tabuleiro, MG. **A** – Adulto, fêmea e prenhe; **B** – Lactente; **C** – Adulto, fêmea; **D** – feto. Fonte: Arquivo pessoal de Susana Puga Ribeiro.

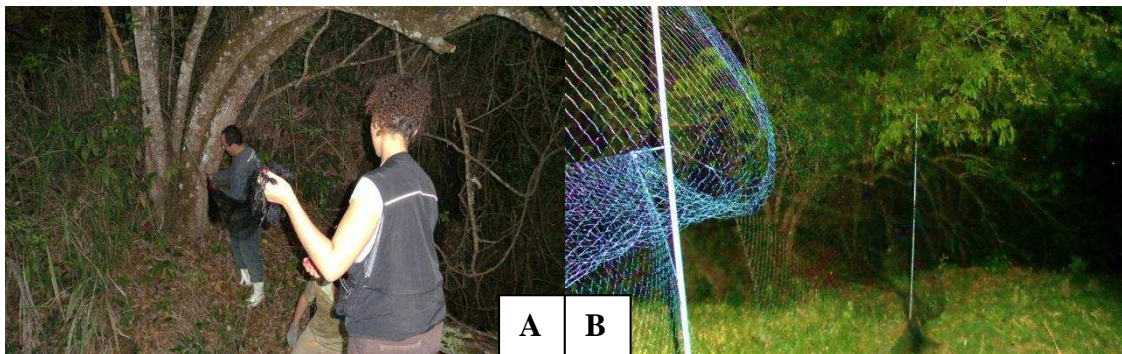


Figura 2. - Redes de neblina armadas para captura de *Desmodus rotundus* na região de Tabuleiro (Latitude: 21°23'12,3"; Longitude: 43°16'40,8") Zona da Mata, MG. Fotos do arquivo pessoal de Susana Puga Ribeiro.

2.2 Procedimentos experimentais

Os animais foram pesados em balança de precisão e eutanasiados por deslocamento cervical seguido de decapitação. Os fetos foram retirados imediatamente das mães gestantes através de incisão abdominal. Foi utilizada como critério para determinação da idade adulta dos morcegos a zona cartilaginosa da região da epífise da quarta articulação metacarpo-falangeal (KUNZ e ANTHONY, 1982). O índice pancreassomático (IPS) foi obtido pela relação entre o peso do pâncreas, PP, e o peso corporal (PC), sendo $IPS = PP/PC$. Os pâncreas retirados foram destinados ao estudo de microscopia de luz no laboratório de Histologia da UFV, porém um de cada grupo, destinado ao Núcleo de Microscopia e Microanálise para as análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microtomografia de Raio X na UFV.

2.3 Histologia do pâncreas

Após coletados, os pâncreas foram imediatamente imersos em Paraformaldeído 4% por um período de 12 horas, sendo então preservados em álcool 70. Em seguida foram desidratados em série etanólica crescente (70 a 100%) e incluídos em parafina. As lâminas foram montadas com cortes semiseriados de 5 μ m de espessura e espaçamento de 200 μ m entre eles, corados com Hematoxilina-Eosina (HE) e Aldeído Fuccina de Gomori. As imagens das secções coradas pela técnica Aldeído Fuccina de Gomori foram utilizadas para análises das ilhotas pancreáticas, e as secções coradas pela técnica HE foram utilizadas na morfometria e estereologia. Todas as imagens foram obtidas pelo fotomicroscópio Olympus BX-40 e analisadas pelo software Image Pro-Plus 4.5® no Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros, pertencente ao Departamento de Biologia Animal da UFV.

2.4 Morfometria do pâncreas

A área das ilhotas e a proporção da área das ilhotas em relação a uma área teste ($AI_{(ilhotas)}/AT_{(área\ da\ foto)}\%$) foram obtidas com a análise de 100 ilhotas por animal no aumento de 200X.

2.5 Estereologia do pâncreas

2.5.1 Volume do pâncreas (V_{cm^3})

As imagens do parênquima pancreático obtidas no aumento de 40X foram utilizadas para medir as áreas das secções dos pâncreas para obter o volume do órgão. O volume do pâncreas foi medido pelo Princípio de Cavalieri, obtido pela fórmula: $V=T.\sum A$ onde $T=\sum$ de secções. t (espessura de corte), ou seja, o produto da distância entre as secções e a $\sum A$ que é igual a soma das áreas das secções do pâncreas.

2.5.2 Densidade volumétrica das ilhotas ($V_{V(ilhotas)}$) (%) e Volume das ilhotas(%)

As $V_{V(ilhotas)}$ foram estimadas pela contagem de pontos sobre a ilhota: a razão do número de pontos que incide sobre a ilhota pancreática (P_p) e o número total de pontos, da área teste em um sistema teste de 266 pontos (P_T): $V_{V(ilhotas)} = P_p/P_T(\%)$. Subsequentemente o volume de ilhotas no pâncreas foi obtido pela multiplicação da $V_{V(ilhotas)}$ e o V .

2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os pâncreas destinados à MEV foram criofraturados e desidratados em série etanólica crescente (70 a 100%) e metalizados no Metalizador Quorum Q150R S para a observação das ilhotas ao Microscópio Eletrônico de Varredura (Leo 1430VP).

2.7 Microtomografia de Raio X (MRX)

Os pâncreas destinados à MRX foram observados no Microtomógrafo SKYSCAN 1174v2 para a construção da imagem tomográfica e observação da morfologia do órgão.

2.8 Análises Estatísticas

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o programa Statistica 7.0. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) seguidos do teste de média Newman Kews com nível de significância de 5% ($p \leq 0.05$). Todos os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão.

3. RESULTADOS

O pâncreas, nos três estágios de vida de *D. rotundus*, está localizado na cavidade abdominal próximo ao duodeno, estômago e baço (Figura 3). A média de peso corporal de fetos foi $8,54 \pm 0,57$ g, de lactentes $13,81 \pm 2,63$ g e de adultos $38,58 \pm 3,74$ g, e a média do peso do pâncreas em fetos foi $0,037 \pm 0,007$ g, em lactentes $0,077 \pm 0,12$ g e em adultos $0,028 \pm 0,018$ g.

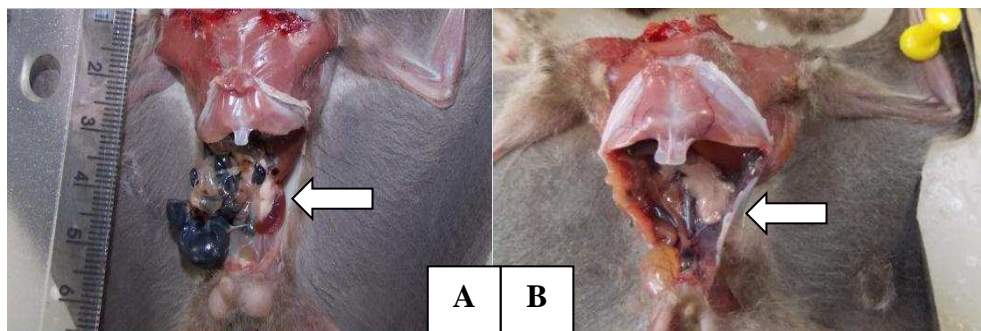


Figura 3. Cavidade Abdominal de *Desmodus rotundus* adulto. A - Seta = Cavidade abdominal de *D. rotundus* adulto; B - Seta = Pâncreas.

O pâncreas do morcego vampiro é subdividido em lobos (Figura 4), e as ilhotas pancreáticas são facilmente observadas entremeadas ao tecido exócrino, não possuindo um formato homogêneo em nenhum estágio de vida estudado (Figuras 5 e 6).

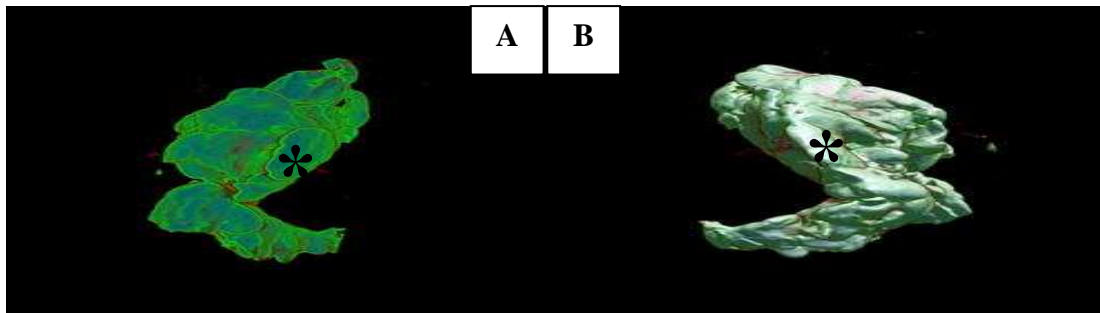


Figura 4. Tomografias do pâncreas de *D. rotundus* adulto. – 36 KV, 674 mA e 24 W. **A**- Face dorsal; **B** – Face ventral. Asterisco – lobo do pâncreas.

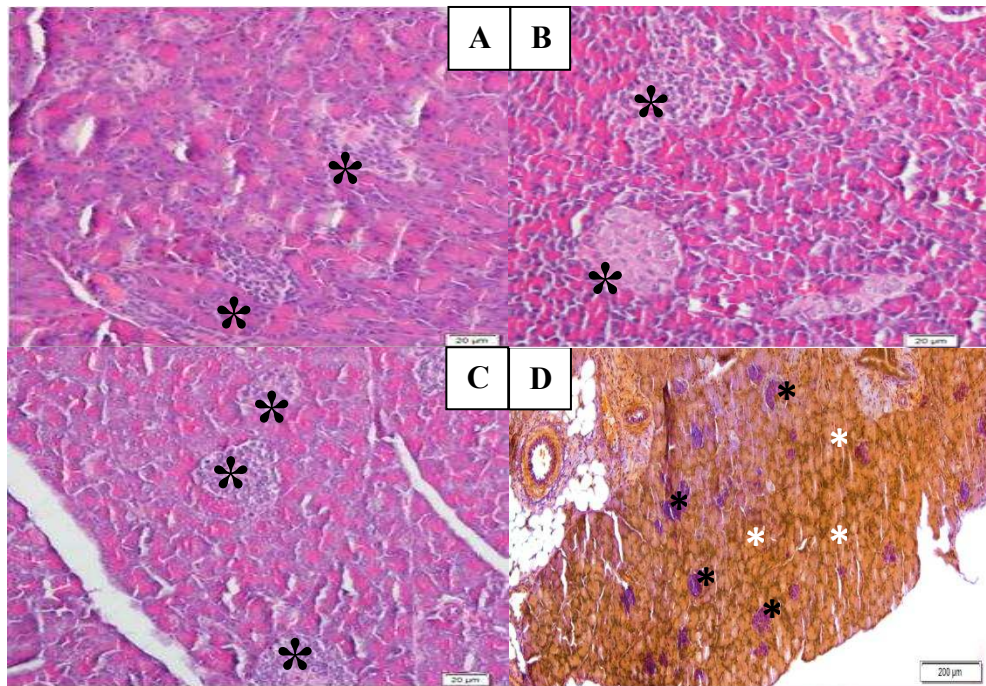


Figura 5. Secções de pâncreas de *D. rotundus*. **A** – Feto; **B** – Lactente; **C** – Adulto; **D** – lactente. **A, B, C** = HE; **D** - Aldeído Fuccina de Gomori. Asteriscos preto = Ilhotas pancreáticas; Asteriscos branco = pâncreas exócrino. Barras **A, B, C** = 20 µm; **D** = 200 µm.

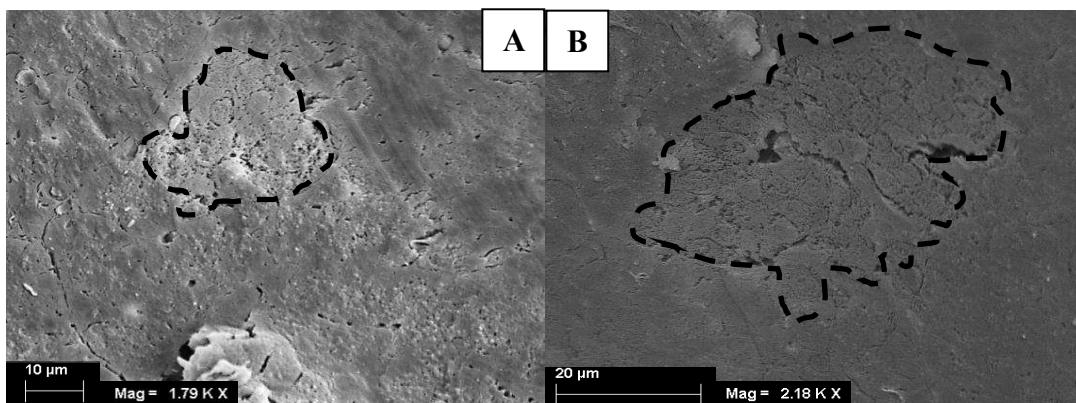


Figura 6. Eletromicrografias de ilhotas pancreáticas de *D. rotundus* usando MEV. **A** = Ilhotas de Lactente; **B** = Ilhota de Adulto. Linha tracejada = Ilhota pancreática

As áreas médias das ilhotas dos fetos, lactentes e adultos estão representados na Tabela 1 e apresentaram, nos três estágios de vida, uma distribuição de células β na porção central no interior da ilhota (Figura 7).

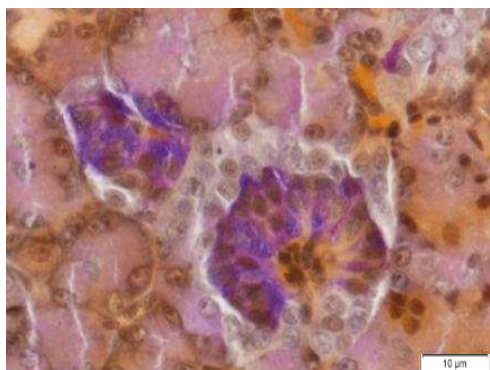


Figura 7. Secção de pâncreas de *D. rotundus*. Aldeído Fuccina de Gomori. Região periférica amarela claro – células alfa; central púrpura – células beta. Barra = 10 μm

A relação entre o peso do pâncreas e o peso corporal (IPS), da área da ilhota em relação à área teste $AI(\text{ilhota})/AT(\text{área da foto})$, a densidade volumétrica (%) e o volume das ilhotas no pâncreas nos três estágios de vida estão representados na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros pancreáticos em *Desmodus rotundus* em diferentes estágios de vida

	Animais		
	Fetos	Lactentes	Adultos
AI (μm^2)	1.325,63 \pm 124,17	2.132,33 \pm 204,72	1.644,77 \pm 30,40
IPS	0,04 \pm 0,001 ^a	0,05 \pm 0,001 ^b	0,07 \pm 0,001 ^c
AI/AT (%)	1,40 \pm 0,001 ^a	5,30 \pm 0,021 ^b	2,00 \pm 0,004 ^a
V _{ilhotas} (%)	0,10 \pm 0,000 ^a	0,50 \pm 0,001 ^b	0,21 \pm 0,001 ^c
V _(ilhotas no pâncreas) (%)	0,07 \pm 0,005 ^a	4,55 \pm 0,377 ^b	4,15 \pm 0,350 ^b

Média \pm DP; Letras diferentes na mesma linha representam diferenças estatísticas entre si ($p < 0,05$). AI = Área média das Ilhotas em μm^2 ; AI/AT = Razão entre Área das ilhotas (μm^2)/Área da foto(μm^2); V_{ilhotas} = Densidade volumétrica das ilhotas; V_(ilhotas no pâncreas) = Volume de ilhotas no pâncreas.

4. DISCUSSÃO

Diversas espécies de mamíferos já estudadas demonstraram alterações morfofisiológicas adaptativas em seu tubo digestivo e pâncreas que permitem lidar com suas preferências alimentares. Nossos estudos investigaram características morfológicas do pâncreas do morcego vampiro comum, uma espécie neotropical hematófaga, em três fases do desenvolvimento deste animal (feto, lactente e adulto), buscando relacioná-las as dietas correspondentes a cada um destes estágios.

Nossos resultados revelaram que o pâncreas, nos três grupos pesquisados, é uma glândula túbulo-acinosa, dividido em lobos e lóbulos pela extensão de uma cápsula de tecido conjuntivo, localizado na cavidade abdominal como já descrito para outros mamíferos (THURLO, 1937). Além disso, o pâncreas apresentou também nos três grupos, ácinos e ilhotas pancreáticas semelhante aos morcegos frugívoros *Eidolon helvum* (ADEEYO *et al.*, 2008), *Rousettus aegyptiacus* (MICHELMORE *et al.*, 1998) e *Artibeus lituratus* (PROTZEK *et al.*, 2010).

Neste trabalho, as ilhotas pancreáticas analisadas em fetos, lactentes e adultos, mostraram que além de não possuírem uma separação bem definida da porção exócrina do pâncreas, possuem formas irregulares e tamanhos variados. Pesquisas mostraram que estas mesmas características das ilhotas foram encontradas em outros morcegos frugívoros como *Rousettus aegyptiacus* (MICHELMORE *et al.*, 1998), *Artibeus lituratus* (PROTZEK *et al.*, 2010) e também no hematófago *Diphylla ecaudata* (MACHADO-SANTOS *et al.*, 2013). As ilhotas de mamíferos roedores apresentam formato mais arredondado e definido sem grandes variações no tamanho, mantendo padrão regular característico (HYON e KIM, 2001).

A morfologia do pâncreas, a forma irregular das ilhotas e a sua variação de tamanho parecem não caracterizarem como adaptações morfológicas relacionadas às diferentes dietas, pois encontramos as mesmas variações de forma e alterações de tamanho nos três estágios de vida de nossos animais. Além disso, outros estudos com dietas diferentes também encontraram tais características, evidenciando serem comuns aos animais pesquisados (MICHELMORE *et al.*, 1998; PROTZEK *et al.*, 2010; MACHADO-SANTOS *et al.*, 2013).

A localização padrão das células endócrinas nas ilhotas pancreáticas varia de acordo com as espécies e suas distribuições nas ilhotas em espécies filogeneticamente distintas podem ter alguma significância funcional (MACHADO-SANTOS *et al.*, 2013). Em roedores, por exemplo, as células beta estão principalmente localizadas no centro das ilhotas e as demais células endócrinas, incluindo as células alfa, estão localizadas na periferia das ilhotas (CAMIHORT *et al.*, 2000).

Em *D. rotundus*, em todas as fases de vida, as células beta apresentaram padrão de distribuição semelhante ao observado nos morcegos hematófago *Diphylla ecaudata* (MACHADO-SANTOS *et al.*, 2013) e frugívoro *R. aegyptiacus* (MICHELMORE *et al.*, 1998) além do encontrado também em roedores (CABRERA *et al.*, 2006) onde as células beta estão localizadas ao longo das ilhotas, mas principalmente no centro. No morcego frugívoro *A. lituratus*, as células β estão localizadas principalmente na periferia das ilhotas (PROTZEK *et al.*, 2010). As células alfa do pâncreas foram encontrados na periferia da ilhota pancreática de *D. rotundus*, em todos os estágios de vida, e em *Diphylla Ecaudata* adultos (MACHADO-SANTOS *et al.*, 2013), mas também observadas irradiando-se da periferia para o centro das ilhotas pancreáticas em morcegos frugívoros *R. aegyptiacus* (MICHELMORE *et al.*, 1998). A distribuição cito-arquitetural das células endócrinas dentro das ilhotas é

considerada importante em suas interações funcionais e pode refletir as funções parácrinas e as interações célula-célula das células endócrinas pancreáticas (PHILIPPE *et al.*, 1992). Nos morcegos frugívoros parece haver uma inversão na distribuição das células alfa e beta nas ilhotas, quando são descritas situações onde as células alfa se localizam periféricamente (*A. lituratus*) ou se irradiando da periferia para o centro das ilhotas (*R. aegyptiacus*) configurando um padrão para morcegos com dieta rica em carboidratos.

Estudos têm relacionado o tamanho, o diâmetro, área e volume das ilhotas pancreáticas de ratos jovens com a secreção de insulina, indicando que o aumento nas dimensões das ilhotas acarreta em maior capacidade de síntese de insulina (REAVEN, 1981; HAYEK e WOODSIDE, 1979). A área média das ilhotas pancreáticas dos morcegos adultos neste trabalho foi 4 vezes menor quando comparada a filhotes de ratos alimentados com dieta pobre em proteína (ARANTES *et al.*, 2002), que possuem peso corporal similar ao de *D. rotundus* adulto, e menor ainda que o observado em morcegos frugívoros adultos *R. aegyptiacus* (MICHELMORE *et al.*, 1998). Porém os resultados encontrados no pâncreas de lactentes deste trabalho, cuja dieta de leite apresenta maior concentração de carboidratos comparados a dieta de sangue, evidenciam que o índice área de ilhotas por área total pancreática foi maior em lactentes quando comparados a adultos e fetos. Resultados encontrados em pesquisas com o gambá *Didelphis albiventris* mostram a diminuição do tamanho das ilhotas em filhotes após o desmame (FONSECA *et al.*, 1996) concordando com os resultados de nossa pesquisa. Assim parece clara a relação entre dietas ricas em proteínas com o menor desempenho pancreático na secreção de insulina com menor resposta tecidual em *D. rotundus*.

Em geral, menor área média das ilhotas, baixas taxas de secreção de insulina e menor proporção de células β são fatores associados devido a ingestão de dieta de sangue, em morcegos vampiros adultos (FREITAS *et al.*, 2013). Em investigações dos níveis plasmáticos de insulina em *D. rotundus* alimentados, foram verificados valores 60% mais baixos quando comparados a ratos alimentados com dieta normal de laboratório (LEPHART *et al.*, 2004). Nossos resultados mostram que a área proporcional de ilhotas em lactentes é maior que a mesma área em adulto e fetos. Portanto, baseado nos resultados acima citados, podemos inferir que as ilhotas destes animais lactentes secretam mais insulina que as ilhotas dos adulto e fetos.

Observamos que a porção endócrina do pâncreas de *D. rotundus* adulto ocupa cerca de 4% do órgão o que é bem menor do que a porção endócrina do pâncreas de *R. aegyptiacus*, 9,1% (MICHELMORE *et al.*, 1998). Os autores atribuem esta grande proporção a uma característica adaptativa da espécie associada a uma dieta rica em carboidratos. Nossos resultados concordam que o volume endócrino no pâncreas é adaptado à dieta, pois apesar do volume de ilhotas no pâncreas em lactentes não apresentar diferenças em relação ao adulto, o IPS do lactente é menor que o do animal adulto. Assim podemos concluir que na realidade o volume de ilhotas em lactentes é proporcionalmente maior comparando estes dois animais.

Sabe-se a massa de células beta no pâncreas pode mudar de acordo com alterações no peso corporal, demanda de insulina e outros parâmetros, incluindo a glicose sanguínea (BOUWENS e ROOMAN, 2005). Pesquisas mostram que um fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) está relacionado com o crescimento da massa de células beta, e que a hipoglicemia regula a massa de células beta via a modulação deste fator, ou seja, a hipoglicemia diminui a liberação do VEGF (XIAO *et al.*, 2013). Assim, a maior massa de células endócrinas no pâncreas de *D. rotundus* é representada por células beta (FREITAS *et al.*, 2013) conseqüentemente a massa de

células beta, tem uma relação positiva com a densidade volumétrica e com o volume destas ilhotas no tecido pancreático. Portanto, *D. rotundus* adulto, um animal hipoglicêmico (FREITAS *et al.*, 2005), provavelmente tem a liberação do fator VEGF inibido pela hipoglicemia, justificando uma adaptação fisiológica expressa na densidade volumétrica das ilhotas influenciado pela dieta. Assim os lactentes que possuem uma dieta com maior quantidade de carboidratos não sofrem a inibição deste fator mantendo o desenvolvimento das ilhotas.

Nossos resultados, como já citados para o volume de ilhotas, mostra que a porção endócrina ocupada no pâncreas de *D. rotundus* adulto é menor do que a porção endócrina ocupada no pâncreas dos morcego frugívoros, *A. literatus* (PROTZEK *et al.*, 2010) e *R. aegyptiacus* mas, igual ao encontrado no hematófago *Diphylla eucaudata* (4,1%) (MACHADO-SANTOS, 2013). O resultado do trabalho com *R. aegyptiacus* ao lado de nossos resultados (*D. rotundus*, nas três fases de vida), e dos resultados do *D. eucaudata*, parecem confirmar a relação do fator VEGF e a glicemia em morcegos.

Animais alimentados com dietas HP, o controle hormonal no estado absorptivo é exercido inicialmente pelo glucagon, cuja secreção é estimulada pelo aumento da concentração plasmática de aminoácidos resultantes da dieta. O glucagon, por sua vez promove a ativação neoglicogênica, gerando um aumento na produção hepática de glicose. Essa ativação neoglicogênica promove um aumento moderado na glicemia, o que estimula a liberação de insulina, porém de maneira menos eficiente do que ocorre em animais HC (QUEIROZ, 2008).

Pesquisas anteriores mostraram que altas concentrações de glicose em *D. rotundus*, tanto quanto dos aminoácidos leucina e glutamina, presentes em maior quantidade na dieta do morcego vampiro, não foram capazes de produzir o aumento esperado na taxa de secreção de insulina, evidenciando uma deficiente neoglicogênese neste animal (FREIAS *et al.*, 2005). Além disso, este animal é muito suscetível ao jejum, e possui pouca habilidade para mobilizar a reserva energética (FREITAS *et al.*, 2013).

Um conceito interessante que foi desenvolvido com base nas suscetibilidades de doenças metabólicas e cardiovasculares em adultos é a programação fetal (LUCAS 1998; THONE-REINEKE *et al.*, 2006). Nesse cenário, durante a gestação, os vampiros em desenvolvimento são submetidos a uma dieta rica em proteínas, única entre os mamíferos, poderia induzir uma resposta adaptativa preditiva (PAR), portanto desencadeada no início da vida, o que induziria uma plasticidade a longo prazo em tecidos específicos, influenciando o fenótipo individual (BATESON *et al.*, 2014). Nesse cenário, durante a gestação, como os vampiros em desenvolvimento são submetidos a uma dieta rica em proteínas, única entre os mamíferos, isso poderia induzir uma programação metabólica fetal levando às alterações aqui descritas, antecipando o ambiente futuro (GLUCKMAN e HANSON, 2004).

Por outro lado, adicionando a estas adaptações morfofisiológicas *D. rotundus* busca no comportamento social adaptações que o ajudem na economia energética para que a energia produzida seja dispensada a outros processos metabólicos. Isso porque, a diminuição do tamanho e da área ocupada pelas ilhotas pancreáticas e consequentemente a diminuição das secreções hormonais não supririam sua necessidade energética diária. Assim, comportamentos sociais como a regurgitação e compartilhamento do alimento, aliados ao fato do alimento estar facilmente disponível,

permitem a este animal adulto economia energética possibilitando sua sobrevivência por quase trinta anos naturalmente.

As análises feitas neste trabalho sugerem que as adaptações morfofisiológicas encontradas são consequências da exposição a uma dieta hiperproteica enquanto feto e adulto, pois são adaptações adquiridas durante o seu desenvolvimento, portanto não são inatas.

REFERÊNCIAS

- ADEEYO O.; CAXTON-MARTINS, E.; OFUSORI, D.; ASHAMU, E.; OMOTOSO, E.; ODUKOYA, S.; YUSUF, U. Comparative histological features of the pancreas in fruit-eating bat (*Eidolon-helvum*) and pangolin (*Manis tricuspis*). *Journal of Cellular and Animal Biology*, 2, 6, p.134-139, 2008.
- ARANTES, V. C.; TEIXEIRA, V. P.; REIS, M. A.; LATORRACA, M. Q.; LEITE, A. R.; CARNEIRO, E. M.; YAMADA, A. T.; BOSCHERO, A. C. Expression of PDX – 1 is reduced in pancreatic islets from pups of rat dams fed a low protein diet during gestation. *Journal of Nutrition*, 132, 10, p. 3030-3045, 2002.
- BANKIR, L.; ROUSSEL, R.; BOUBY, N. Protein and diabetes-induced glomerular hyperfiltration: role of glucagon, vasopressin, and urea. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 309, p. F2–F23, 2015.
- BATESON, P.; GLUCKMAN, P. Plasticity and robustness in development and evolution. *International Journal of Epidemiology*, 41, p.219–223, 2012.
- BOUWENS, L.; ROOMAN, I. Regulation of pancreatic beta-cell mass. *Physiology Reviews*, 85, p.1255–1270, 2005.
- BREIDENSTEIN, C.P. Digestion and assimilation of blood by a vampire bat (*D. rotundus*). *Journal of Mammalian*, 63, 3, p.482-484,1982.
- CABRERA, O.; BERMAN, D.M.; KENYON, N.S.; RICORDI, C.; BERGGREN, P. O.; CAICEDO, A. The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, p.103, p.2334–9, 2006.
- CAMIHORT, G.; Del ZOTTO, H.; GOMEZ DUMM, C. L.; GAGLIARDINO, J. J. Quantitative ultrastructural changes induced by sucrose administration in the pancreatic β cells of normal hamsters. *BioCellular Therapies*, p.24, p.31–7, 2000.
- CHEVIER, G.; MITCHELL, P.; BEAUDOIN, M.S.; MARETTE, A. Impact of Dietary Proteins on Energy Balance, Insulin Sensitivity and Glucose Homeostasis: From Proteins to Peptides to Amino Acids. *The Molecular Nutrition of Amino Acids and Proteins*, p. 241–264, 2016.
- DeFRONZO, R.; DEIBERT, D.; HENDLER, R.; FELIG, P. Insulin Sensitivity and Insulin Binding to Monocytes in Maturity-Onset Diabetes. *Journal Clinical Investigation*, 63, p. 939-946, 1979.

DELPIETRO, H. A.; RUSSO, R.G. Observations of the common vampire bat and *Diphylla* in captivity. *Mammalian Biology*, 67 p. 65 -78, 2002.

FONSECA, C. C. Identificação imunocitoquímica e ultraestrutural das células produtoras de glucagon no pâncreas e nas mucosas do corpo do estômago, do íleo e do cólon durante o desenvolvimento do gambá *Didelphis albiventris* Lund, 1841 (Marsupialia). Belo Horizonte, 176p. Tese (Doutorado em Morfologia), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.

FREITAS, M. B.; PASSOS, C. B. C.; VASCONCELOS, R. B.; PINHEIRO, E. C. 2005. Effects of short-term fasting on energy reserves of vampire bats (*Desmodus rotundus*), *Comparative Biochemistry Physiology B*, p.140:59–62.

FREITAS, M. B.; QUEIROZ, J. F.; GOMES, C. I. D.; COLLARES-BUZATO, C. B.; BARBOSA, H. C.; BOSCHERO, A. C.; GONÇALVES, C. A.; PINHEIRO, E. C. Reduced insulin secretion and glucose intolerance are involved in the fasting susceptibility of common vampire bats. *General and Comparative Endocrinology*, 183, p.1–6, 2013.

GLUCKMAN, P.D.; HANSON, M.A. The developmental origins of the metabolic syndrome. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism*, 15, 4, 2004.

GOMES, C.I.D. Metabolismo energético e resposta ao jejum do morcego hematófago *Diphylla ecaudata*. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Medicina, Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2008.

HAYEK, A.; WOODSIDE, W. Correlation between morphology and function in isolated islets of the Zucker rat. *Diabetes*, 28, p.565–9, 1979.

HYON, SH.; KIM, DH. Long-term preservation of rat pancreatic islets under physiological conditions. *Journal of Biotechnology*, 85, p.241–246, 2001.

KEEGAN, D. J.; MODINGER, R. Microvilli of the intestinal mucosal cells of *Rousettus aegyptiacus*. *South Africa Journal of Zoology*, p.14, p.220–3, 1979.

KRAUS-FRIEDMANN, N. Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis. *Physiological Reviews*, 64, 1, p.170 – 241, 1984.

KUNZ, T. H. AND ANTHONY E. L. P. Age estimation and Post-natal growth in the bat *Myotis lucifugus*. *Journal of Mammalian*. 63, 1, p.23-32, 1982.

LEPHART, E. D.; PORTER, J. P.; LUND, T. D., BU, L.; SETCHELL, K. D. R.; RAMOZ, G.; CROWLEY, W. R. Dietary isoflavones alter regulatory behaviors,

metabolic hormones and neuroendocrine function in Long-Evans male rats. *Nutrition & Metabolism*, p.1-16, 2004.

LINN, T.; SANTOSA, B.; GRONEMEYER, D.; AYGEN, S.; SCHOLZ, N.; BUSCH, M.; BRETZEL, R.G. Effect of long-term dietary protein intake on glucose metabolism in humans. *Diabetologia*, 43, 10, p. 1257-1265, 2000.

LUCAS, A. Programming by Early Nutrition: An Experimental Approach. *Journal of Nutrition*, 128, p.401S–406S, 1998.

MACHADO-SANTOS, C.; AQUINO, J. C. F.; MIKALAUKA, J. S.; ABIDU-FIGUEIREDO, M.; MENDES, R. M. M.; SALES, A. What difference exists in the pancreas of mammals with sanguivorous diet? A morphological, stereological and immunohistochemical study of the pancreatic islets of the hematophagous bat *Diphylla ecaudata*. *Regulatory Peptides*, 183, p.62–68, 2013.

MICHELMORE, A.J.; KEEGAN, D.J.; KRAMER, B. Immunocytochemical identification of endocrine cells in the pancreas of the fruit bat, *Rousettus aegyptiacus*, *General and Comparative Endocrinology*, 110, p.319–325, 1998.

PHILIPPE, J.; GIORDANO, E.; GJINOVCI, A.; MEDA, P. cAMP prevents glucocorticoid-mediated inhibition of insulin gene expression in rodent islet cells. *Journal of Clinical Investigation*, 90, p.2228–33, 1992.

PINHEIRO, E.C.; TADDEI, V. A.; MIGLIORINI, R. H.; KETTELHUT, I. C. Effect of fasting on carbohydrate metabolism in frugivorous bats (*Artibeus lituratus* and *Artibeus jamaicensis*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, B 143, p.279–284, 2006.

PROTZEK, A. O. P.; RAFACHO, A.; VISCELLI, B.A.; BOSQUEIRO, J.R.; CAPPELLI, A. P.; PAULA, F.M.M.; BOSCHERO, A.C.; PINHEIRO, E.C. Insulin and glucose sensitivity, insulin secretion and b-cell distribution in endocrine pancreas of the fruit bat *Artibeus lituratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, A, 157, p.142–148, 2010.

QUEIROZ, J. F. Secreção e sensibilidade periférica à insulina e hormônios contra regulatórios do morcego hematófago *Desmodus rotundus*. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas)- Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2008.

REAVEN, E. P.; GOLD, G.; WALKER, H.; REAVEN, G. M. Effect of variations in islet size and shape on glucose-stimulated insulin secretion. *Hormone and Research Metabolic*, Stuttgart, 13, 12, p.673-674, 1981.

SILVA, S.; MIGLIORINI, R.H. Effects of starvation and refeeding on energy-linked metabolic process in the turtle (*Phrynops hilarii*). *Comparative Biochemistry Physiology*, 96 A, 3, p.415-419, 1990.

THONE-REINEKE, C; KALK, P; DORN, M. ; KLAUS, S.; SIMON, K.; PFAB, T.; GODES, M.; PERSSON, P.; UNGER, T.; B. HOCHER. High-protein nutrition during pregnancy and lactation programs blood pressure, food efficiency, and body weight of the offspring in a sex-dependent manner. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* , 291, p.R1025–R1030, 2006.

THURLO, T. B. Cellular components of the mammalian islet of Langerhans. *American Journal Anatomy*, 62, p.31-57, 1937.

XIAO, X.; GUO, P.; CHEN, Z.; EL-GOHARY, Y.; WIERSCH, J.; GAFFAR, I.; PRASADAN, K.; SHIOTA, C.; GITTES, G. K. Hypoglycemia Reduces Vascular Endothelial Growth Factor A Production by Pancreatic Beta Cells as a Regulator of Beta Cell Mass. *The Journal of Biological Chemistry*, 288, 12, p.8636–8646, 2013.

ZHAO, X.; PETER, A.; FRITSCHKE, J.; ELCNEROVA, M.; FRITSCHKE, A.; HA`RING, H. U.; SCHLEICHER, E. D.; XU, G.; LEHMANN, R.. Changes of the plasma metabolome during an oral glucose tolerance test: is there more than glucose to look at? *American Journal Physiology Endocrinology and Metabolism*, 296, p.E384 – E393, 2009.

CAPÍTULO 2

ADAPTAÇÕES MORFOLÓGICAS NOS RINS DE MORCERGOS-VAMPIRO (*Desmodus rotundus*) EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE VIDA

ADAPTAÇÕES MORFOLÓGICAS NOS RINS DE MORCEGOS-VAMPIRO (*Desmodus rotundus*) EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE VIDA

RESUMO

A dieta sangue é explorada somente por três espécies de morcegos vampiros entre os mamíferos. Considerando seu alto conteúdo proteico, várias adaptações fisiológicas são reportadas no morcego comum vampiro, ainda alterações na função renal durante suas fases de vida devido às variações na carga de produtos nitrogenados não são documentadas. Com o objetivo de buscar sobre a cronologia das possíveis adaptações morfofisiológicas no tecido renal de *D. rotundus* em diferentes estágios de vida, frente a diferentes dietas como o leite enquanto lactentes e o sangue em sua fase adulta foram analisados os rins de 6 adultos, 6 lactentes e 6 fetos. Nossos resultados reportaram um aumento na área dos glomérulos (AG), como também uma maior densidade volumétrica dos glomérulos ($V_{\text{glomérulos}}$) e túbulos uriníferos corticais ($V_{\text{v túbulos corticais}}$) encontrados nos animais adultos em relação aos lactentes e fetos. Estes resultados justificam a hipertrofia renal e o maior IRS encontrados nos animais adultos também em relação aos lactentes e fetos. Além disso, foram analisados índices renais relacionados com a capacidade máxima de concentração urinária como o MI/C e o MT/C mostrando uma medula interna mais espessa em morcegos vampiros adultos em relação aos morcegos vampiros lactente e fetos. Estes resultados traduzem uma maior habilidade de concentração urinária em adultos em relação aos outros estágios de vida. A maior espessura da medula nos animais adultos reflete uma importante adaptação no tecido renal para suportar o ambiente azotêmico em que vive. Observamos também uma maior densidade e rearranjos de podócitos na cápsula glomerular nos animais adultos comparados aos lactentes. Trata-se de uma adaptação morfológica provocada pelo aumento da força mecânica de distensão e cisalhamento na membrana basal glomerular (MBG), em consequência de um grande aumento de volume extracelular e, portanto um grande fluxo de filtração glomerular após a alimentação com uma dieta hiperproteica (sangue). Assim, nós concluímos que as alterações morfológicas reportadas aqui nos rins de morcegos vampiros após a transição da dieta sangue pode constituir uma programação fetal culminando nas adaptações em adultos para que este animal sobrevivesse a uma dieta de sangue.

Palavras chaves: morcegos sanguívoros, dieta proteica e plasticidade do tecido renal.

1. INTRODUÇÃO

Acredita-se que morcegos evoluíram de um progenitor insetívoro, embora os morcegos existentes possuam diferentes hábitos alimentares (REIS *et al.*, 2007). Eles incluem além dos insetívoros, espécies frugívoras, nectarívoras, onívoras, piscívoras e sanguívoras (HUTSON *et al.*, 2001). Assim, pode-se esperar que o comportamento, a morfologia e as especialidades nutricionais reflitam a evolução de uma série de adaptações fisiológicas correspondentes (ADAMS e PEDERSEN, 2000).

O morcego vampiro, *Desmodus rotundus*, se alimenta especificamente de sangue (GREENHALL *et al.*; 1983), portanto uma dieta altamente proteica, com 1% de carboidratos e quase 94% de proteínas (BREIDENSTEIN, 1982,). Excessiva ingestão de proteína pode induzir a excessiva deaminação e consequentemente a doenças renais crônicas (CARRERO *et al.*, 2013). Esta dieta específica sugere adaptações renais devido a uma grande demanda na atividade excretora (PATIL, 2014).

Pelo fato de sua dieta possuir grande quantidade de água e dele consumir até 40% do seu peso (McFARLAND e WIMSATT, 1969), *Desmodus rotundus* apresenta grande fluxo de urina durante a alimentação (SINGER, 2002) como uma adaptação fisiológica necessária para que consiga voar após o forrageamento.

Adaptações morfológicas renais às diferentes dietas têm sido observadas quando se compara morcegos frugívoros, *Rousettus leschenaulti*, e morcegos insetívoros, *Megadherma lyra lyra* (falso vampiro). *Rousettus leschenaulti* que se alimentam de frutas, dieta com maior índice de carboidratos, incluem um córtex renal espesso, medula renal delgada e papila curta comparados aos *Megadherma lyra lyra* que se alimentam de insetos, dieta com maior índice de proteínas, possuem medula espessa e uma papila renal longa (PATIL e JANBANDHU, 2012).

Os índices renais envolvidos com a espessura medular, zona medular interna e córtex (MI/C) e proporção da medula em relação ao córtex (MT/C), estão altamente relacionados com a capacidade máxima de concentração urinária (GELUSO, 1978). Assim, Studier e Wilson (1983) comprovaram que os frugívoros, que possuem índices menores que insetívoros, apresentam menor habilidade para a concentração urinária. McFarland e Wimsatt (1969) relataram a habilidade de concentração urinária incomum do rim do morcego vampiro e, concluíram que morcegos vampiros, devido a sua dieta, possuem adaptações para um estado de azotemia.

Embora *D. rotundus* tenham evoluído para essa dieta muito específica, sangue, os recém-nascidos se alimentam inicialmente de leite, que oferece proporções mais equilibradas de carboidratos, lipídios e proteínas, além de vitaminas e minerais necessários para seu crescimento e desenvolvimento durante suas fases iniciais da vida (REIS *et al.*, 2007). Apesar da composição do leite diferir de acordo com a ingestão protéica materna (Huibregtse, 1963), os índices proteicos no sangue são muito maiores que no leite, o que faz com que a transição dietética leite-sangue, em vampiros, ocorra durante um período de 3 meses, um período drástico em termos de composição dieta (DELPIETRO e RUSSO, 2002). Esta transição geralmente é associada às adaptações necessárias nos órgãos e tecidos ligados à absorção, assimilação e excreção dos resíduos do metabolismo da dieta.

Portanto, de acordo com o hábito alimentar, *D. rotundus* se utiliza de diferentes dietas em relação ao conteúdo de proteínas e carboidratos em suas diferentes fases de vida. Assim, várias adaptações morfológicas e fisiológicas renais, observadas no animal adulto, foram consequências de sua dieta específica, porém pouco se conhece sobre a cronologia destas adaptações. Este fato é um convite a investigações comparativas das alterações da morfologia renal nesses morcegos em seus diferentes estágios de vida. Portanto, o objetivo deste trabalho é analisar a histomorfologia dos rins de morcegos *Desmodus rotundus* associada às diferentes dietas desse animal desde a fase fetal até a fase adulta, a fim de avaliar as adaptações associadas à plasticidade das estruturas renais em resposta às dietas características destas fases.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizados 18 morcegos da espécie *Desmodus rotundus*, sendo 6 adultos, 6 lactentes e 6 fetos, capturados na região do distrito de Tabuleiro, (Latitude: - 21°23'12,3"; Longitude: - 43°16'40,8") Zona da Mata, MG, durante o período de Outubro a Dezembro do ano de 2016. A captura foi feita com o auxílio de redes de neblina armadas na entrada de cavernas onde a espécie é comumente encontrada nessa região. Todos os animais foram identificados de acordo com a chave de identificação para Morcegos do Brasil (VIZOTTO e TADDEI, 1973) e colocados em gaiolas de ferro (45 X 22 cm). As gaiolas foram levadas ao Morcegário no Museu João Moojen Zoology, da Universidade Federal de Viçosa (UFV). O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFV (protocolo 22/2016) e SISBIO (registro n. 53265-1).

2.2 Procedimentos Experimentais

Os animais foram pesados e eutanasiados por deslocamento cervical seguido de decapitação. Os fetos foram retirados imediatamente das mães gestantes através de incisão abdominal. Todos os rins retirados dos animais tiveram o volume mensurado por meio da técnica de deslocamento de líquido sendo $V_{\text{órgão}} (\text{cm}^3) = (V_{\text{final-água,ml}} - V_{\text{inicial-água,ml}})$, (WEIBEL, 1966). Para medir a hipertrofia renal, foi calculado o Índice Renal Somático (IRS) dividindo o peso do rim pelo peso corporal do animal.

2.3 Análises histológicas

2.3.1 Observações histológicas

Os rins destinados à histologia foram desidratados em série etanólica crescente (70 a 100%) fixados em Karnovsky e incluídos em parafina. Para a montagem das lâminas foram obtidas secções de 5µm de espessura, em intervalos de 50µm entre elas.

As secções foram coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) e Ácido Periódico de Schiff (PAS). Para a visualização do órgão inteiro, lâminas com secções dos três estágios de vida deste animal foram enviadas ao Centro de Aquisição e Processamento de Imagens (CAPI) no Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). O aparelho utilizado para a aquisição destas imagens foi o “SCANNER” Panoramic Desk da 3D Histeck® que utiliza Objetiva Zeiss Plan-Apochromat de 40x NA 0,95 para a digitalização (Plataforma de digitalização PANNORAMIC DESK-BF) de lâminas histológicas. O programa utilizado na visualização de imagem foi o software Pannoramic Viewer. Para análise das secções histológicas com o objetivo de visualizações de estruturas renais foram obtidos imagens capturadas em microscópio de luz Olympus BX-60®, Tóquio, Japão e associadas ao software Image Pro-Plus 4 (Media Cybernetics). Para a morfometria as imagens capturadas em aumento de 40X foram utilizadas para medidas das espessuras de córtex, medula externa e interna. Para a medida da área glomerular foi utilizada o aumento de 100x. Todas as imagens obtidas foram associadas ao software de análise de imagens Image Pro-Plus 4 (Media Cybernetics). Para medir a capacidade de concentração urinária foram feitas 3 medidas consecutivas de córtex, de medula externa e de medula interna por secção, sendo utilizadas 3 secções por animal. Portanto foram feitas 54 medidas por região (córtex, medula externa e medula interna) visto que cada grupo era constituído de 6 animais. Estas medidas foram utilizadas para os seguintes índices: MI/MT (espessura da medula interna / espessura da medula total), ME/MT (espessura da medula externa / espessura da medula total), ME/C (espessura da medula externa / espessura do córtex) MI/C (espessura da medula interna/ espessura do córtex), MT/C (espessura da medula total/ espessura do córtex). Além disso, foram feitas medidas das áreas de 100 corpúsculos renais, em um total de 10 fotos por animal e a área glomerular (glomérulo + cápsula glomerular) foi relacionada à média das 10 áreas das fotos (áreas testes) observadas por animal em todos os estágios.

2.3.2 Estereologia

Das lâminas em PAS foram utilizadas 10 imagens no aumento de 100X para medida das densidades volumétricas dos glomérulos e túbulos renais no córtex, através da contagem de pontos sobre as respectivas estruturas utilizando a fórmula: $V_v = PP$ [estrutura]/PT onde PP é o número de pontos sobre a estrutura e PT é o total do número de pontos na área teste (266). Para todas as análises histomorfométricas foram usadas o IMAGE Pro Plus 4.5, software para análise de imagens (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA).

2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Após o período de fixação em glutaraldeído 2,5% por 24h a 4° C, os rins destinados à MET foram lavados em tampão cacodilato, contrastado com Tetróxido de Ósmio 1% e em seguida incluídos em metacrilato. As amostras foram levadas ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV para a ultramicrotomia (Ultramicrotomo

RMC Products Power Tome-X) e finalmente ao Microscópio Eletrônico de Transmissão Zeiss EM 109 para capturar as fotos.

2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras destinadas à MEV foram levadas ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV. Foram desidratados em álcool absoluto (3 banhos de 15'cada) e levadas ao Secador de ponto crítico Balzers CPD 030. Finalmente foram metalizados no Metalizador Quorum Q150R S para a observação ao Microscópio Eletrônico de Varredura Leo 1430 VP.

2.6 Análises Estatísticas

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o programa Statistica 7.0. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguidos do teste de média Newman Keuls com nível de significância de 5% ($p \leq 0.05$). Todos os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão.

3. RESULTADOS

As secções dos rins de fetos, lactentes e adultos mostram a forma do órgão e regiões bem definidas, principalmente na fase adulta, como o córtex, medula e papila (Figura 1 A, B e C).

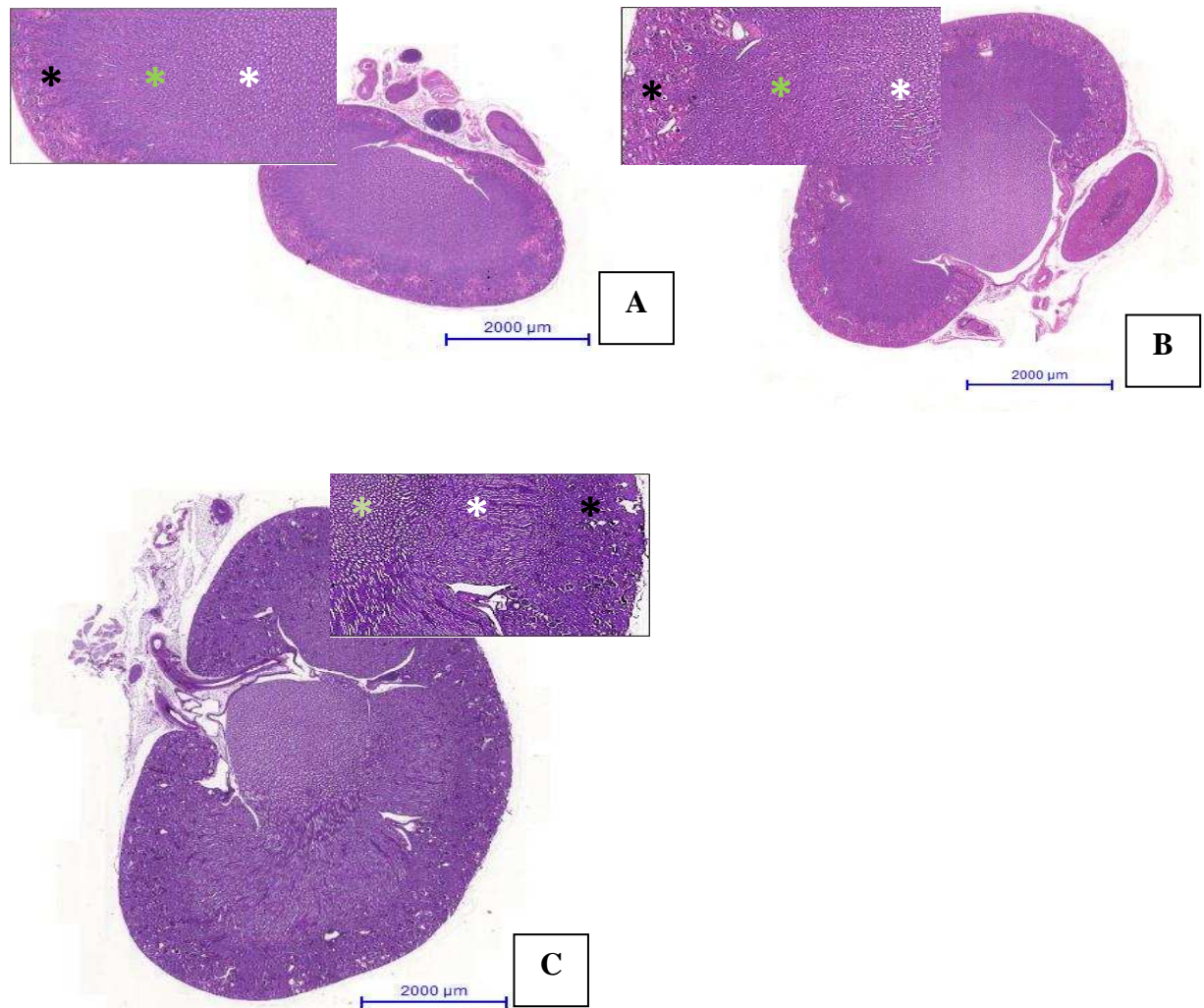


Figura 1. Secções de rins de *D. rotundus*. **A** – Feto; **B** – Lactente; **C** – Adulto. Detalhes: * preto = córtex; * verde = medula; * branco = papila. “SCANNER” Panoramic Desk. A, B = HE; C = PAS

Na Tabela 1 é apresentada primeiramente a média em gramas dos pesos corporais (PC) e dos pesos dos rins (PR) dos fetos, lactentes e adultos. O IRS se apresentou maior em adultos ($27,23 \pm 3,10$) comparados aos outros grupos, lactentes ($12,39 \pm 1,72$) e fetos ($9,23 \pm 2,06$). Sendo que os grupos fetos e lactentes não apresentaram diferenças. A respeito do índice, área glomerular em relação à área teste (AG/AT), os adultos apresentaram maior valor ($3,6 \times 10^{-3} \pm 6,51 \times 10^{-4}$) comparado aos outros dois grupos, fetos ($2,1 \times 10^{-3} \pm 4,63 \times 10^{-4}$) e lactentes ($2,4 \times 10^{-3} \pm 3,61 \times 10^{-4}$) entre os quais não foram observadas diferenças. Além disso, as densidades volumétricas de túbulos ($V_{v\text{túbulos}}$) e glomérulos ($V_{v\text{glomérulos}}$) mostram maiores valores em adultos ($32,25$

$\pm 3,74$ e $2,92 \pm 0,02$, respectivamente) em relação aos fetos ($3,61 \pm 0,47$ e $0,54 \pm 0,08$) e aos lactentes ($8,680 \pm 1,24$ e $0,82 \pm 0,01$).

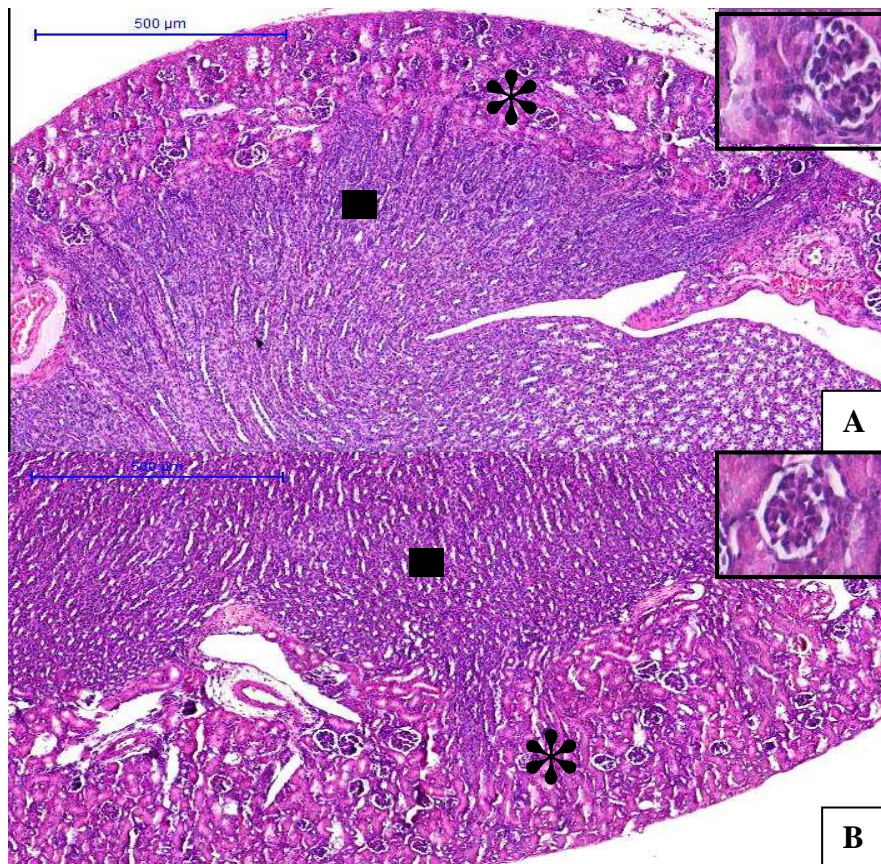
Tabela 1: Parâmetros de *Desmodus rotundus* nos diferentes estágios de vida

	Animais		
	Fetos	Lactentes	Adultos
PC (g)	$8,30 \pm 2,12$	$11,93 \pm 3,31$	$40,65 \pm 5,15$
PR (g)	$0,08 \pm 0,05$	$0,10 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,04$
IRS	$9,23 \pm 2,06^a$	$12,39 \pm 1,72^b$	$27,23 \pm 3,10^c$
AG/AT	$2,1 \times 10^{-3} \pm 4,6 \times 10^{-4} a$	$2,4 \times 10^{-3} \pm 3,6 \times 10^{-4} a$	$3,6 \times 10^{-3} \pm 6,5 \times 10^{-4} b$
V_vtúbulos (%)	$3,61 \pm 0,478^a$	$8,68 \pm 1,24^b$	$32,25 \pm 3,74^c$
V_vglomérulos (%)	$0,54 \pm 0,081^a$	$0,82 \pm 0,01^b$	$2,92 \pm 0,02^c$

Média±DP ; Letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam variação significativa.

$P < 0,05$ para IRS (%); $P \leq 0,007$ para V_vglomérulos (%); $P \leq 0,005$ para AG/AT e $P \leq 0,001$ para V_vtúbulos (%). PC (g) = média corporal em gramas; PR (g) = média dos pesos dos rins em gramas; IRS = índice rim somático (%); AG/AT = área glomerular (μm^2)/área teste(μm^2).

Na Figura 2 (A, B e C) observam-se detalhes na região cortical e a transição entre a região cortical e medular em *D. rotundus* fetos, lactentes e adultos.



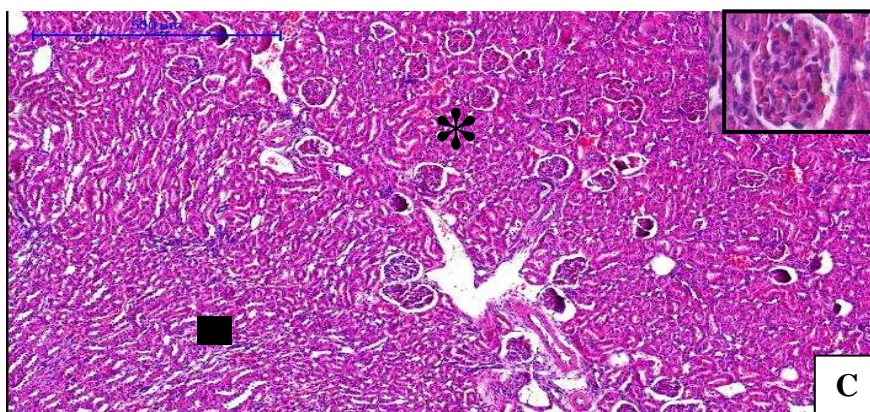


Figura 2. Secções de rins de *D. rotundus*. **A** – Feto; **B** – Lactente; **C** – Adulto. Detalhes: glomérulo. * = região cortical; ■ = região medular.

A Tabela 2 apresenta os resultados das razões entre as espessuras de córtex, medula externa, medula interna e medula total para os animais em cada um dos estágios de vida. As razões entre as espessuras da medula interna e córtex (MI/C) e espessuras da medula total e córtex (MT/C) foram relacionadas com a habilidade de concentração urinária. Nesses resultados observamos que a razão MI/C não foi alterada entre fetos e lactentes, mas aumentou em relação aos adultos. A razão MT/C não foi diferente estatisticamente entre fetos e lactentes, porém apresentou aumento significativo para os animais adultos.

Tabela 2: Índices renais para *Desmodus rotundus*

	Animais		
	Fetos	Lactentes	Adultos
MI/MT	0,51 ± 0,02 ^a	0,55 ± 0,02 ^a	0,59 ± 0,06 ^a
ME/MT	0,48 ± 0,02 ^a	0,44 ± 0,02 ^a	0,40 ± 0,06 ^a
ME/C	1,13 ± 0,06 ^a	1,06 ± 0,02 ^a	1,24 ± 0,19 ^a
MI/C	1,17 ± 0,13 ^a	1,32 ± 0,17 ^a	1,82 ± 0,22 ^b
MT/C	2,31 ± 0,17 ^a	2,38 ± 0,19 ^a	3,06 ± 0,22 ^b

Média±DP; Letras diferentes na mesma coluna são diferentes entre si (p<0,05).

MI/MT = razão da espessura da medula interna/espessura total da medula; ME/MT = razão da espessura da medula externa/espessura total da medula; ME/C = razão da espessura da medula externa/espessura do córtex; MI/C = razão da espessura da medula interna/espessura do córtex; MT/C = razão da espessura total da medula/espessura do córtex.

As Figuras 3A e 3B apresentam eletromicrografias (MET) da membrana basal glomerular do córtex renal entre um capilar glomerular e o compartimento subcelular do podócito (membrana filtrante) de *D. rotundus* lactente e adulto, respectivamente. Observa-se maior densidade de pedicelos em lactentes (Figura 3A) e ausência de pedicelos em adultos (Figura 3B) e, portanto um grande espaço na membrana filtrante de adulto em relação ao lactente. As Figuras 3C e 3D apresentam eletromicrografias (MEV) do corpo celular do podócito, suas extensões e pedicelos, mostrando a diferença de densidade de pedicelos entre lactente e adulto respectivamente.

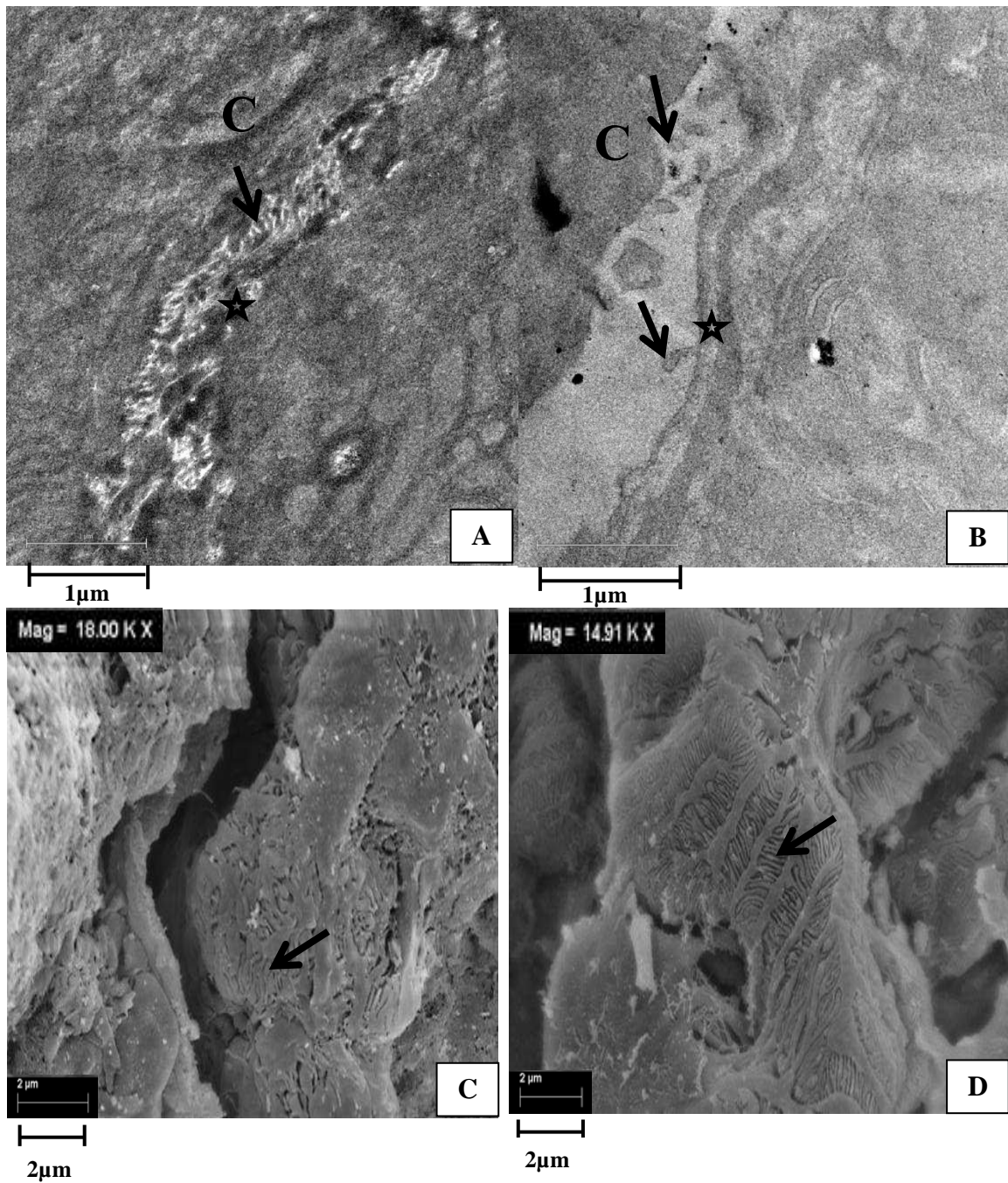


Figura 3. Eletromicrografia de podócitos de *D. rotundus*. **A e B** – MET; **C e D** – MEV. **A e C** – lactente; **B e D** – adulto. **A e B** - membrana basal (lâmina basal) entre um capilar glomerular e compartimento subcelular do podócito. **C e D** – Corpo celular de podócitos e pedicelos. **A e B** – barra = 1 μm . **C e D** – barra = 2 μm . **C** - Mag = 18.00KX; **D** - Mag = 14.91KX.

4. DISCUSSÃO

A diversidade alimentar em mamíferos vem despertando interesse sobre a influência de dietas específicas que envolvem além de adaptações ambientais e morfológicas, alterações nos tratos fisiológicos (BUSH, 1987). Há indicações que a dieta tem potencial para agir como força seletiva modulando a função, metabolismo e estrutura do sistema renal destes vertebrados (RABINOWITZ *et al.*, 1973; SCHONDUBE *et al.*, 2001). Assim, o crescimento corporal esteja intimamente relacionado ao tamanho do rim, a ingestão de proteínas parece induzir efeito direto sobre seu volume (ESCRIBANO *et al.*, 2011). Tal fato pode ser observado nos resultados obtidos neste estudo onde morcegos vampiros adultos (*Desmodus rotundus*) que ingerem sangue bovino comparado aos lactentes aumentaram a proporção do peso dos rins em relação ao peso corporal de 0,10g/100g em lactentes, para 0,26g /100g nos adultos, um aumento de 54,5%. Resultado semelhante também foi documentado por Kostogryns *et al.* (2015) que concluíram que os rins dos ratos Wistar com dietas de alta concentração proteica (HP) aumentaram o peso de 0,5g/100g para 0,9g/100g de peso corporal, ou seja 44,5% de aumento no peso dos rins.

Foi aqui detectado também aumento significativo no índice AG (área glomerular) $\mu\text{m}^2/\text{AT}$ (área teste na área) μm^2 de adultos em relação ao mesmo índice de lactentes e fetos bem como a densidade volumétrica dos glomérulos (V_v glomérulos) e densidade volumétrica dos túbulos (V_v túbulos) na região do córtex no tecido renal em três estágios de vida de *D. rotundus*. Estes resultados corroboram Marckmann *et al.* (2015), que encontraram um aumento de 60 a 70% no volume renal e volume glomerular em suínos tratados com dieta hiperproteica (proteína = 35%E) comparada a uma dieta isoenergética normal (proteína = 15% E).

Analisando a fisiologia do tecido renal foi observado que o aumento do fluxo de plasma renal (FPR) e do ritmo de filtração glomerular (RFG) é devido tanto ao balanço túbulo glomerular (BTG) negativo quanto também à dieta HP (HAMMOND e JANES, 1998) aumentando a carga renal (ESCRIBANO *et al.*, 2011). Estas observações também podem justificar o aumentado volume renal em morcegos adultos mostrados aqui, sabendo que estes vampiros se alimentam com 40% do seu peso corporal de sangue (McFARLAND e WIMSATT, 1969) e urinam copiosamente por 30 minutos enquanto estão se alimentando (UIEDA, 1982; McFARLAND e WIMSATT, 1969).

Outra variável que pode apresentar alterações associadas à ingestão de grande quantidade de proteína é a taxa de filtração glomerular (TFG) (KING e LEVEY, 1993). Sabe-se que parâmetros como número de glomérulos e área glomerular integram a equação para o cálculo da TFG (STAHL, 1965), o que sugere que qualquer aumento nos dois parâmetros reflete uma alta na TFG. Nossos resultados mostram que ambos os parâmetros são aumentados em morcegos vampiros adultos. Semelhante ao que foi encontrado para estes dois parâmetros, a alta da TFG foi também associada a uma ingestão de grande quantidade de proteína (LARSEN, 2012) e uma infusão de aminoácidos (GABBAI, 2018).

Um aumento da concentração da ureia no sangue inibe enzimas do ciclo da ureia resultando em hiperamonemia (CHEW e IP, 2014) e o aumento de amônia provoca o aumento da TFG e FSR (SINGER, 2002). Considerando que a amônia é o principal produto nitrogenado excretado originado da formação da ureia, sua concentração no sangue pode ser um indicativo para um aumento na TFG. A concentração conhecida de ureia em morcegos vampiros (27 a 57 mmol/l, Singer, 2002), é 5 vezes maior do que a descrita para mamíferos de mesmo tamanho (2 a 10 mmol/l) (SINGER, 2002). Este fato sugere adaptações especiais, como um aumento na TFG para a sobrevivência deste animal neste ambiente azotêmico.

Analisando a fisiologia do tecido renal foi observado que o aumento do fluxo de plasma renal (FPR) e do ritmo de filtração glomerular (RFG) é devido à queda do balanço túbulo glomerular (BTG) e à concentração de proteínas (HAMOND e JANES, 1998). Além disto, a queda do BTG é considerada a principal causa da expansão de volume nas arteríolas glomerulares (WOODS *et al.*, 1991). O aumento destas variáveis, FPR e RFG, além de provocar o aumento da fração de filtração (FF) e reabsorção de produtos nitrogenados (HAMOND e JANES, 1998) aumentam a carga renal (ESCRIBANO *et al.*, 2011). Este fato pode explicar o aumento do volume renal dos indivíduos adultos de *D. rotundus* em relação aos lactentes e fetos obtidos neste estudo. Animais adultos durante o forrageamento ingerem até 16ml de sangue por dia, o que representa de 40 a 50% do seu peso (McFARLAND e WIMSATT, 1969) e durante a alimentação urina até 30 vezes em meia hora (UIEDA, 1982; McFARLAND e WIMSATT, 1969).

Os resultados deste estudo mostraram secções dos rins de *D. rotundus* com três regiões bem definidas: córtex, medula e papila. A medula é espessa e subdividida em região externa e interna, nos três estágios de vida analisados. Tal resultado é também observado em espécies de morcegos insetívoros como o *Hipposideros speoris* e *Megaderma lyra lyra* (PATIL e JANBANDHU, 2012; PATIL, 2014). Porém, entre os filostomídeos, principalmente frugívoros e nectarívoros como as subfamílias Glossophaginae, Carollinae, e Stenodermatinae, estas subdivisões na região medular não são observadas (BEUCHAT, 1990).

Carpenter (1969) analisando o morcego nectarívoro *Leptonycteris sanborni*, verificou que a espessura da região medular desta espécie era a metade (2,5 mm) da espessura da região medular encontrada em *Desmodus rotundus* (5,0 mm) (McFarland e Wimsatt, 1969). Beuchat (1990), comparando o comprimento da medula, tamanho corporal e concentração urinária de 245 espécies, concluiu que morcegos com dieta altamente proteica possuem medula espessa e dividida em externa e interna, corroborando a associação entre a morfologia dos rins e o hábito alimentar dos indivíduos (PATIL e JANBANDHU, 2012). Os resultados aqui obtidos quanto à espessura da medula total e medula interna dos animais adultos expressas nos índices MT/C e MI/C são semelhantes aos resultados encontrados por Patil em 2014 com morcegos carnívoros. Provavelmente os animais lactentes de *D. rotundus* possuem medulas menos espessas do que a medula dos animais adultos, devido à dieta com um menor conteúdo proteico.

Geluso (1978) demonstrou que os índices renais envolvidos com espessura medular estão altamente relacionados com a capacidade máxima de concentração urinária e que os melhores índices para tal, são a razão entre a medula interna e o córtex (MI/C) e a razão entre a medula total (externa + interna) e o córtex (MT/C). Para explicar a relação da espessura da medula e a dieta consumida, vários autores (BASSET, 1985; BUSH, 1987; PATIL e JANBANDHU, 2012; PATIL *et al.* 2010 e PATIL, 2014) concluíram que longos túbulos uriníferos, responsáveis pelo aumento da espessura da medula, é uma adaptação para a conservação de água em animais com dieta altamente proteica.

Morcegos que consomem dietas com grande quantidade de proteína tais como os insetívoros e os hematófagos produzem urina mais concentrada comparada aos morcegos que consomem dietas com pouca quantidade de proteína como os frugívoros e nectarívoros (CARPENTER, 1969; McNAB, 1973; GELUSO, 1978; STUDIER e WILSON, 1983; STUDIER *et al.*, 1983). Studier (1982) demonstrou uma relação proporcional entre a pressão osmótica máxima (mOsm/Kg) e o índice MI/C de morcegos de 6 espécies com dietas diferentes, onde quanto maior o índice, maior a habilidade de concentração urinária.

Os resultados deste estudo indicam que indivíduos adultos de *D. rotundus* possuem maior habilidade de concentração urinária que os lactentes. Adicionalmente, em razão da ureia ser proveniente do metabolismo proteico, a contribuição desse soluto na hiperosmolaridade medular é maior na vigência de uma dieta proteica (STUDIER, 1982; SINGER *et al.*, 2002), justificando a adaptação morfológica encontrada nos animais adultos deste estudo em relação aos lactentes quanto a habilidade de concentração urinária. Como observado, os animais lactentes analisados neste estudo não apresentaram resultados morfológicos significativamente diferentes em relação aos fetos, inferindo possivelmente que indivíduos de *D. rotundus* sofrem adaptações morfofisiológicas ao transitarem de dieta com um baixo nível proteico (lactente) para uma dieta com um alto nível proteico.

Outra diferença evidenciando adaptações fisiológicas após a transição de dieta é a perda dos pedicelos aderidos à membrana basal glomerular em adultos. Acredita-se que o aumento das tensões mecânicas causadas por hipertensão glomerular, hiperfiltração e hipertrofia do tecido renal são as causas dos possíveis deslocamentos dos podócitos e rearranjos dos pedicelos. Sendo a MBG (membrana basal glomerular) uma estrutura elástica, ela se expandirá com o aumento das tensões mecânicas glomerulares e conseqüentemente aumentará a área da MBG sem adesões com pedicelos, diminuindo a densidade dos pedicelos, aumentando os espaços da membrana filtrante (HIR *et al.*, 2001). Sabendo que *D. rotundus* durante seu forrageamento ingere grande quantidade de sangue, aumentando o líquido extracelular, o fluxo sanguíneo e o ritmo de filtração, é plausível inferir que os espaços observados na Figura 3B deste estudo sejam rearranjos adaptativos dos podócitos causados pela tríade hipertensão glomerular, hiperfiltração glomerular e hipertrofia dos glomérulos.

Um interessante conceito tem sido desenvolvido baseado em distúrbios metabólicos e cardiovasculares susceptíveis em adultos, a programação fetal (LUCAS, 1998; THONE-REINEKE *et al.*, 2006). Condições como a pressão alta e alterações na

sensibilidade à insulina em adultos ocorre em humanos devido ao ambiente gestacional pobre em nutrientes (McMILLEN e ROBINSON, 2005). Ratos alimentados com dieta pobre em proteína pré e pós-nascimento, determinaram alterações na pressão sanguínea e também na função renal quando adultos (HOPPE *et al.*, 2006), enquanto que aumentos no conteúdo proteico podem também induzir mudanças fisiológicas durante a vida (SOOKOIAN *et al.*, 2013). Os autores defendem que a exposição a fatores diferentes nutricionais durante períodos críticos de desenvolvimento podem programar mudanças morfológicas e fisiológicas no organismo (HOPPE *et al.*, 2006).

Neste cenário, *D. rotundus* durante a gestação recebe dieta com 90% de proteína, fator indicativo para uma programação fetal que provocaria adaptações morfofisiológicas descritas aqui antecipando o futuro ambiental para seguir com crescimento adequado e sobreviver melhor quando adulto (GLUCKMAN e HANSON, 2004).

A hipótese do fenótipo econômico, proposta por Barker e Hales (2001), também ajuda na compreensão dos resultados obtidos neste estudo, onde as adaptações metabólicas fetais e a programação fetal promovem a sobrevivência do organismo em desenvolvimento respondendo a “pistas” do ambiente, selecionando uma trajetória apropriada de crescimento. Propuseram ainda que o “fenótipo econômico” também é adaptativo em longo prazo através da hipótese da resposta adaptativa predita (PAR), referindo a uma plasticidade do desenvolvimento onde as informações recebidas no início da vida influenciam o desenvolvimento de um fenótipo que é normalmente adaptado às condições ambientais da vida futura (BATESON *et al.*, 2014). Muitos mecanismos diferentes fundamentam essa plasticidade (BATESON e GLUCKMAN, 2011), e muitas vezes envolvem epigenética, ou seja, mudanças na expressão do DNA sem, contudo mudança do genoma (GODFREY *et al.*, 2007).

Neste contexto, Gluckman e Hanson (2004) afirmaram que a plasticidade do desenvolvimento beneficia os filhos ao incorporar antecipadamente uma previsão de seu ambiente adulto, o que justifica os resultados deste estudo quanto ao aumento do IRS, volume renal e índices como MI/C e MT/C, além das alterações morfológicas no corpúsculo renal na fase adulta quando são expostos novamente a uma dieta altamente proteica. Estas adaptações podem ter provido estes animais, uma adequada função renal no seu desenvolvimento sob uma dieta altamente proteica.

REFERENCIAS

- ADAMS, R.A.; PEDERSEN, S.C. Integrating ontogeny into ecological and evolutionary investigations. In: ADAMS, R.A.; PEDERSEN, S.C. (eds). *Ontogeny, functional ecology, and evolution of bats*. Cambridge University Press, New York, 398, p.1-9, 2000.
- BASSET, J. E. Habitat aridity differences in the and intraspecific urine concentrating ability of insectivorous bats. *Comparative Biochemistry Physiology*, 72A, 4, p.703 - 708, 1982.
- BATESON, P.; GLUCKMAN, P. Plasticity and robustness in development and evolution. *International Journal of Epidemiology*, 41, p.219–223, 2012.
- BATESON, P.; GLUCKMAN, P.; HANSON, M. The biology of developmental plasticity and the Predictive Adaptive Response hypothesis. *Journal Physiology*, 592, 11 p.2357–2368, 2014.
- BEUCHAT, C. A. Body size, medullary thickness, and urine concentrating ability in mammals. *American Journal of Physiology – Regulatory American Journal of Physiology – Regulatory*, 258, p.R298-R308, 1990.
- BREIDENSTEIN, C. P. Digestion and assimilation of blood by a vampire bat (*Desmodus rotundus*). *Journal of Mammalian*, 63, 3, p.482-484, 1982.
- BUSH, C. Consumption of blood, renal function and utilization of free water by the vampire bat, *Desmodus rotundus*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 90A, 1, p.141-146, 1988.
- CARPENTER, R.E. Salt and water metabolism in the marine fish-eating bat, *Pizonyx vivesi*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 24, p.951–964, 1968.
- CARRERO, J. J.; STENVINKEL, P.; CUPPARI, L.; IKIZLER, T. A.; KALANTAR-ZADEH, K.; KAYSEN, G.; MITCH, W. E.; S. PRICE, R.; WANNER, C.; WANG, A.Y. M.; WEE, P.; FRANCH, H. A. Etiology of the Protein-Energy Wasting Syndrome in Chronic Kidney Disease: A Consensus Statement From the International Society of Renal Nutrition and Metabolism (ISRNM). *Journal of Renal Nutrition*, 23, 2, p.77-90, 2013.
- CHEW, S.F.; IP, Y.K. Excretory nitrogen metabolism and defence against ammonia toxicity in air-breathing fishes. *Journal of Fish Biology*, 84, p.603–638, 2014.

DELPIETRO, H. A.; RUSSO, R.G. Observations of the common vampire bat and *Diphylla* in captivity. *Mammalian Biology*, 67, p.65 -78, 2002.

ESCRIBANO, J.; LUQUE, V.; FERRE, N.; ZARAGOZA-JORDANA, M.; GROTE, V.; KOLETZKO, B.; GRUSZFELD, D.; SOCHA, P.; DAIN, E.; VAN, H.; JEAN-NOEL ; VERDUCI, E.; CLOSA-MONASTEROLO, R. Increased protein intake augments kidney volume and function in healthy infants. *Kidney International*, 79, p.783–790, 2011.

GABBAI, F. B. The role of renal response to amino acid infusion and oral protein load in normal kidneys and kidney with acute and chronic disease. *Wolters Kluwer Health*, 27, 1, 2018.

GELUSO, K.N. Urine concentrating ability and renal structure of insectivorous bats. 1978. *Journal of Mammalian*, 59, p.312-323, 1978.

GLUCKMAN, P.D.; HANSON, M.A. The developmental origins of the metabolic syndrome. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism* 15, 4, 2004.

GODFREY, K. M.; LILLYCROP, K.A.; BURDGE, G. C.; GLUCKMAN, P.D.; HANSON, M. A. Epigenetic Mechanisms and the Mismatch Concept of the Developmental Origins of Health and Disease. *Pediatric Research*, 61, 5, 2p, 2007.

GREENHALL, A. M.; JOERMANN, G.; SCHMIDT, U; SEIDEL, M. R. *Desmodus rotundus*. *Mammalian Species*, Oxford, 202, p.1-6, 1983.

HAMMOND, K.A.; JANES, D.N. The effects of increased protein intake on kidney size and function. *The Journal of Experimental Biology*, 201, p.2081–2090, 1998.

HIR, M.L.; KELLER, C.; ESCHMANN, V.; HÄHNEL, B.; HOSSER, H.; KRIZ, W. Podocyte Bridges between the Tuft and Bowman's Capsule: An Early Event in Experimental Crescentic Glomerulonephritis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12, p.2060–2071, 2001.

HOPPE, C.C.; EVANS, R.G.; MORITZ, K.M. Combined prenatal and postnatal protein restriction influences adult kidney structure, function, and arterial pressure. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292, p.R462–R469, 2007.

HUIBREGTSE, W. H. The composition of bat milk: a chemical analysis. Dissertation (Master of Science) - University of Arizona, Arizona, 33p, 1963.

HUTSON, A.M.; MICKLEBURGH, S.P.; RACEY, P.A. (comp.). In: *Biology, Ecology, and Systematics of Microchiropteran Bats*. IUCN/SSC Chiroptera Specialist Group.

Microchiropteran bats: global status survey and conservation action plan. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 258p, 2001.

KING, A. J.; LEVEY, A.S. Dietary Protein and Renal Function. *Journal American Society of Nephrology*, 3, p.1723-1737, 1993.

KOSTOGRYS, R. B.; FRANCZYK-ŻARÓW, M.; MAŚLAK, E.; TOPOLSKA, K. Effect of low carbohydrate high protein (LCHP) diet on lipid metabolism, liver and kidney function in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39, 2, p.713–719, 2015.

LARSEN, R. N.; MANN, N. J.; MACLEAN, E.; SHAW, J. E. The effect of high-protein, low-carbohydrate diets in the treatment of type 2 diabetes: a 12 month randomised controlled trial. *Diabetologia* 54, p.731–740, 2011.

LUCAS, A. Programming by Early Nutrition: An Experimental Approach. *Journal of Nutrition*, 128, p.401S–406S, 1998.

MARCKMANN, P.; OSTHER, P.; PEDERSEN, A.N.; JESPERSEN, B. High-Protein Diets and Renal Health. *Journal of Renal Nutrition*, 25, 1, p.1-5, 2015.

McFARLAND, W. N.; WIMSATT, W. A. Renal function and its relation to the ecology of the vampire bat, *Desmodus rotundus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 28, 3, p.985–1006, 1969.

McNAB, B. K. Energetics and the distribution of vampire bats. *Journal of Mammalogy*, Lawrence, 31, p.227-268, 1973.

McMILLEN, C.; ROBINSON, J. Developmental Origins of the Metabolic Syndrome: Prediction, Plasticity, and Programming. *Physiology Reviews*, 85, p.571–633, 2005.

PATIL, K. G. Functional Adaptations in the Kidney of Chiropteran *Hipposideros speoris* (Schnider): Mammals. *World Journal of Zoology*. 9,1, p.38-45, 2014.

PATIL, K. G.; JANBANDHU, K. S. Developmental Stages of Metanephros in Indian False Vampire *Megaderma lyra lyra* (Geoffroy) Chiroptera, Mammalia. Department of Zoology, Government Institute of Science, Nagpur 440001, (M.S.) India, 2012.

PATIL, K.G.; JANBANDHU, K.S.; RAMTEKE, A.V. Renal Morphology of Indian Palm Civet *Paradoxurus hermaphroditus hermaphroditus* (Schrater); (Carnivora; Mammalia). *Hislopia Journal*, 3, 2, 2010.

RABINOWITZ, L.; GUNTHER, R. A.; SHOJI, E. S.; FREEDLAND, R. A.; AVERY, E. H. Effects of high and low protein diets on sheep renal function and metabolism. *Kidney International*, 4, 3, p.188–207, 1973.

REIS, N.R. Sobre os Morcegos do Brasil. In: REIS, N.R. PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I. P.(eds). Morcegos do Brasil. Londrina: 253p, 2007.

SINGER, M.A. Vampire bat, shrew, and bear: comparative physiology and chronic renal failure. *American Journal Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 282, p.R1583–R1592, 2002.

SOOKOIAN, S.; GIANOTTI, T. F.; BURGUEÑO, A.L.; PIROLA, C.J. Fetal metabolic programming and epigenetic modifications: a systems biology approach. *Pediatric Research*, 73, 4, 2013.

STAHL, W. R. Organ Weights in Primates and Other Mammals. *Science*. 150, 3699, p.1039-1042, 1965.

STUDIER, E. H.; WISNIEWSKI, S. J.; FELDMAN, A. T.; DAPSON, R. W.; BOYD, B. C.; WILSON, D. E. Kidney Structure in Neotropical Bats. *Journal of Mammalian* 64, 3, p.445-452, 1983.

STUDIER, E. H.; WILSON, D.E. Natural urine concentration and composition in Neotropical bats. *Comparative Biochemistry Physiology*, 75A, 4, p.509-515, 1983.

THONE-REINEKE, C; KALK, P; DORN, M. ; KLAUS, S.; SIMON, K.; PFAB, T.; GODES, M.; PERSSON, P.; UNGER, T.; B. HOCHER. High-protein nutrition during pregnancy and lactation programs blood pressure, food efficiency, and body weight of the offspring in a sex-dependent manner. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 291, p.R1025–R1030, 2006.

UIEDA, W. Aspectos do comportamento alimentar das três espécies de morcegos hematófagos (Chiroptera, Phyllostomidae). Dissertação (Mestrado) Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1982.

VIZZOTTO, L.D.; TADDEI, V. A.; Chave para determinação de quirópteros brasileiros. Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 1973.

WEIBEL, E. R.; KISTLER, G. S.; SCHERLE, W. F. Practical stereological methods for morphometric cytology. *The Journal of Cell Biology*, 30, 1966.

WOODS, L.L; DEYOUNG, D.R.; SMITH, B.E. Regulation of renal hemodynamics after protein feeding: effects of loop diuretics. *American Journal of Physiology*, 261,5, p.815-823, 1991.

CONCLUSÕES GERAIS

No capítulo 1 encontramos adaptações morfológicas no tecido pancreático adulto em relação aos outros grupos testados (lactentes e fetos). Sugere-se que, como estas adaptações ocorreram após a transição leite-sangue, a dieta foi um dos fatores que pode ter contribuído para a plasticidade pancreática. A baixa quantidade de carboidratos na dieta de fetos, e após seu desenvolvimento, lactentes e adultos pode ter promovido uma menor área endócrina pancreática secretora de hormônios regulatórios do metabolismo energético neste animal, o que ficou evidenciado em nosso estudo pela menor área proporcional de ilhotas pancreáticas, menor densidade volumétrica de ilhotas e também menor volume de ilhotas no tecido pancreático.

No capítulo 2, mostramos que *D. rotundus* adultos desenvolveram adaptações renais ao longo do desenvolvimento, como: hipertrofia renal, aumento da área glomerular, aumento da densidade volumétrica de glomérulos e túbulos. Sugerimos que a TFG em adultos seja maior do que em lactentes e fetos, pois os expoentes (área glomerular e número de glomérulos) para o cálculo deste parâmetro estão aumentados nesta fase de vida deste animal. Quanto a concentração urinária, *D. rotundus* apresentam adaptações morfofisiológicas que permitem um maior FPR e RFG através de um BTG negativo e um consequente rearranjo de pedicelos, provocando maior excreção para permitir o voo após o forrageamento. Porém, adaptações como maior espessura da medula total e interna em relação ao córtex em animais adultos resultam em maior concentração urinária em relação aos lactentes e adultos, resultado esperado devido à exposição, nesta fase de vida, a uma dieta altamente proteica.

Concluimos que as adaptações encontradas tanto no tecido pancreático quanto no tecido renal são desenvolvidas após os estágios de vida intrauterina e lactação pós-parto, induzidos provavelmente no início da transição à dieta hiperproteica de sangue, apoiadas na teoria da programação fetal, onde estas adaptações, apesar de ainda não aparentes, são programadas durante o desenvolvimento fetal como consequência do ambiente qual é gerado.

Nossos resultados sugerem que a dieta de sangue, explorada unicamente por morcegos vampiros dentre a classe Mammalia, representou desafios fisiológicos durante o desenvolvimento tanto ao tecido renal quanto ao pâncreas endócrino. O tecido renal de morcegos hematófagos adultos apresentou diversas alterações fundamentais no sentido de se lidar com a imposição de uma maior função excretora, o que permitiu a sobrevivência deste animal, porém demandando um alto investimento energético para este sistema. Ao mesmo tempo, em relação aos desafios pancreáticos, algumas alterações morfológicas foram demonstradas, porém a dieta hiperproteica parece não desafiar o pâncreas de maneira semelhante ao evidenciado para os rins. Ao contrário da dieta rica em carboidratos, que representa um desafio maior em termos de controle da hiperglicemia em mamíferos, a função regulatória dos hormônios pancreáticos em morcegos vampiros apresenta adaptações a uma menor pressão para secreção destes hormônios em adultos. Neste caso, para compensar as baixas reservas energéticas

endógenas estimuladas por uma menor secreção de insulina, imposta pelo baixo conteúdo de glicose na dieta de sangue de adultos, um comportamento social parece ter desempenhado um papel fundamental - o compartilhamento recíproco do alimento. Este comportamento altruístico, descrito exclusivamente por Wilkinson (1984) para esta espécie de morcego dentre todos os vertebrados, envolve a regurgitação de sangue dos animais que conseguiram obter alimento aos que não obtiveram sucesso, garantindo que todos os animais da mesma unidade social obtenham alimento, e parece ter favorecido a sobrevivência da espécie, por compensar a baixa habilidade de obter energia endogenamente, em função de uma menor estimulação de células β pancreática imposta pela dieta de sangue.